

**HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR
BAKTERIELLEN NIERENERKRANKUNG
(BKD, BACTERIAL KIDNEY DISEASE)
DER SALMONIDEN UNTER BESONDERER
BERÜCKSICHTIGUNG DER ÄSCHE
(THYMALLUS THYMALLUS)**

SIBYLLE KETTLER

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554617_0039

Aus dem Institut für Zoologie und Hydrobiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstände: Prof. Dr. M. Ruf
Prof. Dr. W. Ahne

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof.Dr.Dr.habil.R.Hoffmann

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR BAKTERIELLEN NIEREN-
ERKRANKUNG (BKD, BACTERIAL KIDNEY DISEASE) DER SALMONIDEN
UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER
ÄSCHE (THYMALLUS THYMALLUS)*

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Sibylle Kettler
aus
München

*Die Untersuchungen wurden durch das Bundesministerium für
Ernährung, Landwirtschaft und Forsten dankenswerterweise
unterstützt

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr.habil. R. Hoffmann

Korreferent: Priv.Do. Dr. Dr.habil. H. Waibl

27. Februar 1987
Tag der Promotion: -----

I n h a l t

I.	Einleitung.....	1
II.	Literaturbesprechung.....	2
1.	Bacterial Kidney Disease (BKD, bakterielle Nierenerkrankung).....	2
1.1	Vorkommen.....	2
1.2	Klinik der BKD.....	4
1.3	Pathologisch anatomische Veränderungen.....	4
2.	Pathologische Histologie.....	6
3.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen.....	9
4.	Nachweismethoden von Renibacterium salmoninarum	11
4.1	Bakteriennachweis am histologischen Schnittpräparat.....	11
4.2	Bakteriennachweis am Abklatschpräparat.....	11
4.3	Anzucht des Erregers.....	12
4.4	Doppelimmunodiffusion nach Ouchterlony.....	12
4.5	Immunofluoreszenzfärbung.....	12
4.5.1	Direkte Immunofluoreszenz.....	13
4.5.2	Indirekte Immunofluoreszenz.....	13
4.6	Koagglutination.....	13
4.7	Nachweis von Antikörpern gegen Renibac- terium salmoninarum durch Agglutination.....	13
4.7.1	Objektträgerschnellmethode.....	13
4.7.2	Mikrotitermethode.....	13
4.7.3	Hämagglutinationshemmungsreaktion-HAH.....	13
III.	Eigene Untersuchungen.....	14
1.	Material.....	14
1.1.	Versuchsfische und deren Haltung.....	14
1.2.	Wildfische und Feldfische.....	14
1.3.	Bakterien und Medien.....	14
1.4.	Applikation.....	15
1.5.	Versuchsansätze, Tabelle 2	15
2.	Methoden.....	16
2.1.	Lichtmikroskopie.....	16
2.2.	Elektronenmikroskopie.....	17
2.3.	Bakteriologie.....	18

3	Ergebnisse der eigenen Untersuchungen.....	19
3.1	Aschen (<i>Thymallus thymallus</i>).....	19
3.1.1	Infektionsversuche.....	19
3.1.1.1	Klinischer Verlauf und Symptomatik.....	19
	A) Versuch Nr.1.....	19
	B) Versuch Nr.2.....	19
3.1.1.2	Pathologisch anatomisches Bild.....	20
	A) Versuch Nr.1.....	20
	B) Versuch Nr.2.....	21
3.1.1.3	Pathologische Histologie.....	24
	A) Versuch Nr.1.....	24
	a) Niere.....24	e) Leber.....27
	b) Peritoneum.....25	f) Gonaden.....27
	c) Herz.....26	g) Auge.....27
	d) Milz.....26	h) Sonstiges.....27
	B) Versuch Nr.2.....	27
3.1.1.4	Bakteriologie.....	28
3.1.1.5	Elektronenmikroskopische Befunde.....	38
3.1.2.	Wild- und Feldfische.....	44
3.1.2.1	Pathologische Histologie.....	44
3.1.2.2	Bakteriologie.....	44
3.2	Bachsaiblinge (<i>Salvelinus fontinalis</i>).....	46
3.2.1	Infektionsversuche.....	46
3.2.1.1	Klinischer Verlauf und Symptomatik.....	46
3.2.1.2	Pathologisch anatomisches Bild.....	46
3.2.1.3	Pathologische Histologie.....	46
3.2.1.4	Bakteriologie.....	47
3.2.2	Wild- und Feldfische.....	50
3.2.2.1	Pathologische Histologie.....	50
3.2.2.2	Bakteriologie.....	50
3.2.2.3	Elektronenmikroskopische Befunde.....	50
3.3	Huchen (<i>Hucho hucho</i>).....	55
3.3.1	Infektionsversuch.....	55
3.3.1.1	Klinischer Verlauf und Symptomatik.....	55
3.3.1.2	Pathologisch anatomisches Bild.....	55
3.3.1.3	Pathologische Histologie.....	56
3.3.1.4	Bakteriologie.....	57
IV.	Diskussion.....	62
V.	Zusammenfassung.....	68
VI.	Summary.....	69
VII.	Literaturverzeichnis.....	70

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen:

Tabelle 1	BKD-empfindliche Fischarten.....	3
Tabelle 2	Versuchsansätze.....	15
Tabelle 3	Versuch Nr.1.....	22
	Aschen, Symptomatik und Bakteriologie	
Tabelle 4	Versuch Nr.2.....	23
	Aschen, Symptomatik und Bakteriologie	

Tabelle 5	Versuch Nr.1.....	30
	Aschen, Histologie und Bakteriologie	
Tabelle 6	Versuch Nr.2.....	31
	Aschen, Histologie und Bakteriologie	
Tabelle 7	Aschen, Wild- und Feldfische.....	45
Tabelle 8	Versuch Nr.3.....	48
	Bachsaiblinge, Symptomatik und Bakteriologie	
Tabelle 9	Versuch Nr.3.....	49
	Bachsaiblinge, Histologie und Bakteriologie	
Tabelle 10	Bachsaiblinge, Wild-und Feldfische....	52
Tabelle 11	Versuch Nr.4.....	58
	Huchen, Symptomatik u.Bakteriologie	
Tabelle 12	Versuch Nr.4.....	59
	Huchen, Histologie und Bakteriologie	
Tabelle 13	Zusammenfassung histologischer Befunde der experimentell infizierten Fische aller untersuchten Spezies.....	60
Legende zu den Tabellen.....		61
Abb. 1	Niere, infizierte Asche, PAS.....	33
Abb. 2	Bakterien und Makrophagen, PAS.....	33
Abb. 3	Milzbelag, infiz.Bachsaibling, PAS....	33
Abb. 4	Granulome, Niere, infiz.Asche.....	35
Abb. 5	Schwimmbase, infiz.Asche.....	35
Abb. 6	Herz, infizierte Asche.....	35
Abb. 7	Leber, infizierte Asche.....	37
Abb. 8	Auge, Granulom, infiz.Asche.....	37
Abb. 9	Epitheloidzellgranulom, inf.Asche....	37
Abb. 10	Epitheloidzellgranulom, Asche, Feldfisch	37
Abb. 11	Bakterium, Ultrastruktur.....	41
Abb. 12	Bakterien nach Teilung.....	41
Abb. 13	Makrophage in glomer.Kapillare.....	41
Abb. 14	Makrophage, Uebersicht	43
Abb. 15	Myelinartige Fig., Makrophage.....	43
Abb. 16	Phagozyten, Typ 2 und 3	43
Abb. 17	Niere, Bachsaibling (Feldfisch).....	54
Abb. 18	Periglom.Fibrose, B'saibling.....	54
Abb. 19	Basalmembran, Glomerulum, B'saibling...	54
Abb. 20	Fibrozyt, Kollagenfibrillen.....	54

I. Einleitung

=====

Die bakterielle Nierenerkrankung (BKD - Bacterial Kidney Disease) stellt eine schwerwiegende Allgemeinerkrankung der Salmoniden dar. Histologische Untersuchungen der Organe BKD-kranker Forellen, Bachsaiblinge und Lachse wurden durchgeführt und beschrieben (Fryer u. Sanders 1981; Klontz 1982). Seitdem Hoffmann 1983 erstmalig über BKD in der Bundesrepublik Deutschland berichtete und die Vermutung des endemischen Vorkommens dieser Erkrankung äußerte, stellte sich die Frage nach der Empfindlichkeit einheimischer Salmoniden gegenüber dem Erreger und nach der Art der Veränderungen, die er bei ihnen hervorruft. Weiterhin sollte geklärt werden, ob sie als Erregerreservoir bzw. Überträger infrage kommen.

In der folgenden Arbeit werden durch BKD bedingte Veränderungen bei Bachsaiblingen, Huchen und Äschen behandelt.

II. Literaturbesprechung

=====

1. Bacterial Kidney Disease (BKD, bakterielle Nierenerkrankung) der Salmoniden

Die Bakterielle Nierenerkrankung (BKD) ist eine systemische bakterielle Infektion der Salmoniden.

Der Erreger ist ein kleines, grampositives, unbewegliches Stäbchen, das anfänglich als *Corynebacterium salmoninus* den *Corynebacteriaceae* zugeordnet wurde (Ordal und Earp, 1956; Roberts, 1978).

Sanders und Fryer (1980) forderten aufgrund neuer Erkenntnisse im Aufbau der Zellwandstruktur die Einführung eines neuen Genus *Renibacterium* und der Spezies *Renibacterium salmoninarum* sp. nov., und auch Bruno und Munro (1986) zeigten bei ihren taxonomischen Studien verschiedener Stämme des Bakteriums, daß *Renibacterium salmoninarum* eine neue, einheitliche Spezies darstellt.

Der Verlauf der Erkrankung kann, abhängig von Infektionsdruck, Alter, Konstitution, genetischer Disposition und Umweltfaktoren (Stress, Wasserqualität und nutritive Imbalancen) akut, subakut oder, wie in den meisten Fällen, chronisch sein.

Für die Verbreitung der Krankheit ist die subklinische Verlaufsform von entscheidender Bedeutung, da die Übertragung des Erregers vertikal über die Eier, sowie horizontal von Fisch zu Fisch erfolgt (Wedemeyer u. Ross, 1973; Wedemeyer, 1976; Klontz, 1982; Evelyn et al., 1984; Schauner, 1986). Zur Diagnose der BKD führen Beobachtungen von klinischem Verlauf, makroskopisch-anatomischem Bild, und die Ergebnisse von histologischen, bakteriologischen und serologischen Untersuchungen.

1.1 Vorkommen der BKD bei verschiedenen Fischarten

Anfang der dreißiger Jahre dieses Jahrhunderts wurden die ersten Berichte über BKD bei Atlantischen Lachsen (*Salmo salar*), Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*), Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) und Bachforellen (*Salmo trutta*) in Schottland und USA veröffentlicht (Mackie, Arkwright u. Price-Tannat, 1933; Belding und Merrill, 1935).

Zwar wurden andere Bezeichnungen für diese Erkrankung der Salmoniden verwendet (Dee Disease, "Pop-eye" Disease, "White Boil" Disease), aber pathologisch-anatomische Veränderungen sowie die Beschreibung des Erregers entsprechen dem Krankheitsbild der BKD.

In den folgenden Jahren erschienen zusätzlich Berichte über oft schwere Verluste durch BKD bei in Teichwirtschaften gehaltenen, pazifischen Lachsen (Königslachs, *Oncorhynchus tshawytscha*; Silberlachs, *O. kisutch*; Sockeye Lachs, *O. nerka*) (Earp et al., 1953; Rucker et al. 1953).

Seit den frühen fünfziger Jahren ist die BKD bei fast allen in Teichwirtschaften gehaltenen Salmoniden in Nordamerika, Europa, Nahem und Fernem Osten beschrieben worden (Klontz, 1982).

Schauner fertigte 1986 eine Tabelle der an BKD erkrankten Fischarten mit Hinweis auf Autoren und Nationalität an.

Danach wurde BKD bei folgenden Spezies beschrieben:

Tabelle 1 für BKD empfängliche Fischarten
----- (nach Schauner, 1986):

Regenbogenforelle	<i>Salmo gairdneri</i>
Bachforelle	" <i>trutta</i>
Cut-throat trout	" <i>clarki</i>
Europ. Seeforelle	" <i>trutta lacustris</i>
Nordamerik. Seeforelle	<i>Salvelinus namaycush</i>
Silberlachs (Coho L.)	<i>Oncorhynchus kisutch</i>
Sockeye-Lachs (Kokanee-L.)	" " <i>nerka</i>
Königslachs (Chinook-L.)	" " <i>tshawytscha</i>
Buckellachs (Pink Salmon)	" " <i>gorbuscha</i>
Hundlachs	" " <i>keta</i>
Amagolachs	" " <i>rhodurus</i>
Kirschlachs	" " <i>masou</i>
Atlantischer Lachs	<i>Salmo salar</i>
Bachsaibling	<i>Salvelinus fontinalis</i>
Seesaibling	<i>Salvelinus alpinus</i>
Huchen	<i>Hucho hucho</i>
Äsche	<i>Thymallus thymallus</i> *)

*) nur unter Versuchsbedingung erkrankt, jedoch Erreger auch bei Feldfischen isoliert



1.2 Klinik der BKD

Erste Anzeichen für eine Erkrankung sind meist niedrige Wachstumsraten und ab dem Setzlingsalter allmähliche Häufung der Ausfälle (Klontz, 1982; Richards, 1984). Aber auch von heftigen Ausbrüchen mit stark ansteigender Mortalitätsrate wird berichtet (Rucker et.al., 1953).

Die gestorbenen oder erkrankten Fische zeigen Läsionen der Haut in Form von Hämorrhagien, stecknadelkopfgroßen Pusteln und Blasen (Bullock et al., 1971), und Geschwüren oder auch Abszessen (Fryer u.Sanders, 1981; Klontz, 1982; Hoffmann et al., 1984), vorwiegend am Rücken und an den Flossenbasen. Ein- und beidseitiger Exophthalmus (Pop-eye), Corneatrübungen und Verlust des Augapfels sind besonders bei Regenbogenforellen sehr häufig (Hoffmann et al., 1984; Pfeil-Putzien et al., 1985 a u.b.). Aber auch bei pazifischen Lachsen (Bell, 1961; MacLean u.Yoder, 1970; Hendricks u.Leek, 1975; Warren, 1983) und Bachsaiblingen (Snieszko u.Griffin, 1955; Warren, 1984) werden diese Veränderungen beschrieben. Die Orbita ist nach frischem Verlust des Augapfels blutgetränkt. Sie wird im Laufe der Zeit von grauem, granulomatösem Gewebe ausgefüllt (Hendricks u.Leek, 1975; Hoffmann et al., 1984). Die Fische sind oft stärker pigmentiert (Richards et al., 1985) und weisen häufig eine Schwellung des Abdomens auf (Snieszko u.Griffin, 1955; Bell, 1961; Bullock et al., 1971; Fijan, 1977; Popp 1980; Fryer u.Sanders, 1981). Auch über Rötungen und Schwellungen im Bereich des Afters wird berichtet (Snieszko u.Griffin, 1955; Smith, 1964; Richards, 1984).

1.3 Pathologisch anatomische Veränderungen

Bei der Sektion von verendeten oder getöteten Tieren fallen meist Veränderungen an der Niere auf. Hier umfassen die Beschreibungen Schwellungen der ganzen oder nur der caudalen Niere. Auffallend sind Blässe, grau-weiße, umschriebene, weiche Läsionen unterschiedlicher Größe und Anzahl, oder auch graue, speckige, knotige Veränderungen vorwiegend im Rumpfnierenbereich.

Viele Autoren berichten über grau-weiße Läsionen (Ne-krosen, Abszesse, Granulome) in der Leber, wie auch in der Milz und in der Muskulatur (Snieszko u.Griffin, 1955; Bendele u.Klontz, 1975; Fryer u.Sanders, 1981; Klontz, 1982; Hoffmann et al., 1983; Richards et al., 1985).

Auch auffallende Milzschwellungen werden häufig beobachtet (Bullock et al., 1971; Hendricks u. Leek, 1975; Ghittino et al., 1977; Hoffmann, 1983; Hoffmann et al., 1984; Pfeil-Putzien et al., 1985 a u. b; Richards, 1985).

Ferner wurden Veränderungen am Magen-Darmtrakt beschrieben. Fijan (1977) fand bei Regenbogenforellen und Bachforellen Anzeichen einer Enteritis; und Bullock et al. (1971) schilderten eine deutliche Gefäßzeichnung im Intestinum.

Auch Snieszko u. Griffin (1955) fanden bei Bachsaiblingen entzündliche Veränderungen am auffallend blassen Darm. Sie beobachteten zusätzlich einen gelben, eitrigen, flüssigen Darminhalt, und auch MacLean u. Yoder (1970) sowie Warren (1983) berichten bei pazifischen Lachsen, Bachsaiblingen und Forellen über diesen Befund.

In der Bauchhöhle sammelt sich häufig Flüssigkeit an. Snieszko u. Griffin (1955) beschreiben sie bei Bachsaiblingen bernsteinfarben, fast klar oder rot und trüb.

Popp (1980) berichtet über gelegentliches Vorkommen gelblich-weißlichen Exsudats in der Bauchhöhle, und Warren (1983) fand bei Regenbogen-, Bachforellen, Bachsaiblingen und Coho-Lachsen blutige oder gelbbraune, trübe Flüssigkeitsansammlungen im Abdomen.

Bei Bachsaiblingen, atlantischen Lachsen, Regenbogen- und Bach-Forellen wurden Peritonitiden, verbunden mit Hämorrhagien oder milchig-trüben membranösen Überzügen von Milz, Schwimmblase und Darm, beschrieben (Snieszko u. Griffin, 1955; Smith, 1964; Fijan, 1977; Richards, 1984; Bullock et al., 1971; Fryer u. Sanders, 1981).

Auffallend ist, daß diese membranöse Form nur bei Wassertemperaturen unter 11°C vorkam.

Der Herzbeutel ist bei an BKD erkrankten Fischen manchmal mit milchig-trüber oder bräunlich- bis blutig-trüber Flüssigkeit gefüllt (Smith, 1964, bei atlantischen Lachsen; Warren, 1983, bei Bach- u. Regenbogenforellen, Bachsaiblingen und Coho-Lachsen).

Snieszko u. Griffin (1955) beschreiben einen undurchsichtigen pseudomembranösen Überzug am Herzen von Bachsaiblingen. Bullock et al. (1971) berichten über perikardiale Erosionen; Ellis et al. (1978) beobachten bei Chinook-Lachsen zahlreiche granulomatöse Veränderungen am Herzen und Richards (1984) findet bei schottischen Regenbogenforellen besonders oft am Herzen umschriebene, weiße Läsionen. Bei Regenbogenforellen, Bachforellen und Coho-Lachsen fallen regelmäßig deutliche Anzeichen einer Anämie auf (Fijan, 1977; Hoffmann, 1983; Hoffmann et al., 1984).

2. Pathologische Histologie der BKD

Der erste detaillierte Bericht über histologische Untersuchungen bei an BKD erkrankten Bachsaiblingen, Regenbogen- und Bachforellen wurde von Snieszko u.Griffin 1955 veröffentlicht. Darin werden ähnliche Veränderungen wie bei granulomatösen Pilzkrankungen und bei der TBC der Säugetiere beschrieben.

Kleine, miliare "Tuberkel" und Abszesse können in Kiemen, Leber, Milz, Niere, Augen, Muskulatur und im Magen-Darm-Trakt vorkommen. Um die viszerale Organe herum befinden sich große Mengen von typischen, abgegrenzten "Tuberkeln". Riesenzellen kommen gehäuft vor. Oft wird ein kleiner, den Hefepilzen ähnlicher Organismus in Verbindung mit diesen Veränderungen gefunden. Wood et al.(1955) grenzen diese mykotischen Granulome von den typischen BKD bedingten Veränderungen ab. Ein Zusammenhang der beiden Erkrankungen ist diskutiert worden.

Wood u.Yasutake (1956) stellten anhand histologischer Untersuchungen der Organe von erkrankten Bachsaiblingen, Coho- und Chinook-Lachsen eine ausführliche Beschreibung der am Schnitt erkennbaren Läsionen zusammen.

Es wird das Krankheitsbild von granulomatösen Veränderungen, die anscheinend im bindegewebigen Stroma ihren Ursprung haben und in allen Organen vorkommen, beschrieben. Zellen des retikuloendothelialen Systems sind stets betroffen. Riesenzellen werden gelegentlich beobachtet. Durch Ausbreitung der Veränderungen wird in der Regel das Parenchym der betroffenen Organe verdrängt bzw. zerstört.

Auch in frühen Stadien der Krankheit wird eine fortgeschrittene "Schädigung" im hämatopoetischen Gewebe festgestellt. Später wird dann in der Rumpfniere eine Verdrängung des exkretorischen Gewebes durch Gewebsproliferation beobachtet. Möglicherweise wird die Blutversorgung dadurch teilweise unterbunden und dies hat schließlich Gewebsnekrose und "Suppuration" zur Folge.

In der Kopfniere sind in fortgeschrittenen Stadien umfassende fibrotische, granulomatöse Veränderungen zu sehen. In der Muskulatur des vorderen Digestionstraktes wird bei dieser Untersuchung eine ausgeprägte, eosinophile Entzündung, und im caudalen Bereich Granulome vorwiegend in der Submukosa beschrieben.

In fortgeschrittenen Krankheitsstadien entwickelt sich zuerst eine akute, später eine granulomatöse Peritonitis, die auch die Bauchspeicheldrüse einbezieht.

In den Drüsenzellen des Pankreas werden große, runde bis ovale, stark eosinophile oder auch basophile zytoplasmatische Einschußkörperchen sowie vereinzelte Bakterien beschrieben.

Auch in den Leberzellen werden entsprechende Einschußkörperchen und Bakterien angrenzend an Granulome gefunden. Leberzellnekrosen werden selten beobachtet.

Das Milzgewebe zeigt fortschreitende "proliferative Veränderungen, die bis zur vollständigen Unkenntlichkeit der normalen Strukturen reichen".

Am Herzmuskel werden massive Myokarditiden festgestellt.

In den Kiemenepithelien sind ausgedehnte Entzündungsreaktionen zu erkennen.

Selbst die Meningen und das Gehirn sind von fokalen Nekrosen, Granulomen und perivasalen Entzündungsherden betroffen.

An Gallenblase und Schwimmblase und hinter dem Augapfel werden einzelne granulomatöse Knoten gefunden.

Die Muskelläsionen, welche aus massivem, tief greifendem chronisch entzündlichem Gewebe und nekrotischen Muskelbündeln bestehen, lassen oft die Haut unverändert, so daß sie von außen nicht unbedingt sichtbar werden. Regelmäßig werden bei Muskelschäden auch Riesenzellen beobachtet.

Da Bakterien in großer Zahl intra- und extrazellulär vorkommen, wird die Vermutung geäußert, daß die Bakterien durch Phagozytose von Entzündungszellen inkorporiert werden.

Histologische Beschreibungen der durch BKD verursachten Veränderungen sind in den folgenden Jahren nur spärlich veröffentlicht worden.

Smith (1964) beobachtet bei atlantischen Lachsen in Schottland, daß bei Fischen aus wärmeren Gewässern nekrotische Veränderungen in den Organen dominieren, während bei Fischen aus kalten Gewässern (unter 8,3 °C) das Vorkommen von Pseudomembranen überwiegen. Diese bestehen manchmal aus einer dünnen Lage Fibrin und Leukozyten oder es sind drei verschiedene Lagen klar zu trennen. Im letzteren Fall wird außen eine Schicht aus Fibrin, kernhaltigen Zellen und Bakterien beschrieben.

Es folgt eine mittlere Lage aus degenerierten und teilweise von Histiozyten phagozytierten Leukozyten. Die innere Schicht wird von Fibroblasten und Histiozyten gebildet. Die von dieser Membran überzogenen Organe sind nicht verändert. Riesenzellen beobachtet Smith (1964) nicht.

Bullock (1971) sowie Bendele u. Klontz (1975) stellten die dahin bekannten Ergebnisse zusammen, und Wolke (1975) bezeichnete die BKD als systemische, diffus granulomatöse (histiozytäre) Entzündung.

Bei Chinook-Lachsen beschrieben Hendricks u. Leek (1975) chronische, knotige Veränderungen im postorbitalen Raum, die vorherrschend von proliferierenden Makrophagen und epitheloidem Gewebe sowie manchmal von fibrotischem Material gebildet wurden. Trotz Einsprossung von Blutgefäßen in das entzündliche Gewebe schien die Versorgung nicht ausreichend zu sein, da nekrotische Bereiche zu finden waren. Die Augenmuskulatur war degenerativ und nekrotisch verändert.

In den Nieren erkrankter Regenbogenforellen fanden Young und Chapman (1978) in den Zellen der proximalen Tubulusabschnitte des exkretorischen Nierengewebes große, eosinophile Granula, die sehr an hyaline Ablagerungen erinnern. Zytoplasmatische hyaline Einschlüsse entstehen wahrscheinlich größtenteils durch Resorption aus dem glomerulären Filtrat im Falle einer Proteinurie (Robbins, 1974) und werden bei der Glomerulonephritis der Säuger beobachtet (Netter, 1973).

Weitere ausführliche Zusammenstellungen von histologischen Untersuchungen zur BKD wurden von Fryer u. Sanders (1981) und Klontz (1982) verfaßt.

Bei Regenbogenforellen und Coho-Lachsen beschrieben Hoffmann et al. (1984) in der Niere ausgedehnte verkäsende Nekrosen, weitgestellte, amorphes Material enthaltende Tubuli und eine ausgeprägte Vermehrung der Melanomakrophagen.

Weiterhin wurden oft, nach Verlust des Aufapfels, granulomatöse Veränderungen sowie Makrophagen und Leukozyten in der Augenregion gefunden.

Bei vielen Fischen wurde eine chronische, herdförmige, nicht eitrige Myokarditis beschrieben (Pfeil-Putzien et al., 1985b).

Bei allen Berichten über histologische Veränderungen bei BKD wurden Bakterien extrazellulär sowie intrazellulär in phagozytierenden Zellen gefunden.

3. Elektronenmikroskopische Untersuchungen bei an BKD erkrankten Fischen

Die Nieren von BKD-erkrankten Bachsaiblingen (Alter bis 17 Monate) untersuchten Young u. Chapman (1978) mittels Elektronenmikroskopie. Parallel dazu wurden reine Bakterienpräparate für die elektronenoptische Untersuchung angefertigt.

In den Nierenpräparaten werden hier Bakterien extrazellulär und intrazellulär in Makrophagen, polymorphkernigen Leukozyten und Pigmentzellen gefunden. Manche Bakterien befinden sich auch intrazellulär in der Teilung.

Am Glomerulum sind spärliche bis reichliche Ansammlungen subendothelialer und mesangialer elektronendichter Ablagerungen von flockiger bis granulierter Konsistenz zu erkennen. Das mesangiale Gewebe zeigt Proliferationen. Fettähnliche Tropfen kommen in Endothelzellen sowie in Epithelzellen der visceralen und parietalen Blätter der Bowman'schen Kapsel vor.

Das Endothel der Kapillarschlingen weist Lücken auf, und die Versorgung der visceralen Epithelzellen scheint gestört zu sein. Die Basalmembran ist leicht verdickt und fleckig. Große strukturlose Blasen wölben sich aus Endothelzellen ins Lumen der Kapillaren vor und sind Anzeichen eines diffusen Zellödems.

In den Tubuluszellen sind die ersten erkennbaren Veränderungen hydropisch degenerativ. In proximalen und distalen Tubuluszellen sind geschwollene Mitochondrien und ein erweitertes endoplasmatisches Retikulum zu erkennen. Irreversible Schäden wie geplatzte Mitochondrien, Veränderungen am Kern und an Lysosomen sowie zerrissener Bürstensaum oder Plasmalemausstülpung werden in fortgeschrittenen Stadien der Erkrankung beobachtet. Kollagen lagert sich an basalen Tubuluszellwänden an. In diesem Bereich erscheinen den sternförmigen Fibroblasten ähnliche Zellen mit eingelagerten lipidhaltigen Vakuolen ("fat like droplets").

Auch die Zellen des interstitiellen Bindegewebes enthalten diese "fettähnlichen Tropfen".

Laut Meadows (1973) wird diese fettige Degeneration als Zeichen einer akuten Zellschädigung angesehen und kommt meistens beim nephrotischen Syndrom des Menschen vor.

Die Bakterien zeigen ultrastrukturell am Gewebsschnitt wie im reinen Bakterienpräparat folgende Struktur (Young and Chapman, 1978):

Ihre Form ist "bazillenähnlich". Die mittlere Region enthält helleres, filamentöses, als DNS interpretiertes Material. Kleine, elektronendichte Partikel, in Größe und Dichte Ribosomen entsprechend, füllen die Peripherie der Zellen aus.

Weiterhin vergleichen Young und Chapman (1978) die elektronenmikroskopisch erkennbaren Nierenveränderungen der an BKD erkrankten Fische mit ultrastrukturellen Ergebnissen anderer Autoren bezüglich Nierenerkrankungen bei Säugetieren.

4. Nachweismethoden für *Renibacterium salmoninarum*

4.1 Bakteriennachweis am Paraffinschnitt

Wood und Yasutake (1956) färbten Schnittpräparate mit einer modifizierten Wolbachs-Giemsa-Technik (Lillie, 1948). Dabei färbten sich intra- und extrazelluläre Diplokokken rötlich bis purpur.

Weiterhin wurden verschiedene Varianten der Gram-Färbung zur Identifikation der Gram-positiven Bakterien entwickelt (Brown u. Brenn, 1931; Taylor, 1966; Brown u. Hopps, 1973).

Mit Lillie's Allochrome-Technik (Culling, 1974) färbten Bruno u. Munro (1982) Gewebsschnitte an.

4.2 Bakteriennachweis im Organabklatschpräparat

Der Nachweis Gram-positiver Stäbchen bzw. Diplokokken durch Gram-Färbung von Abklatschpräparaten veränderter Gewebe ist eine weitverbreitete, schnelle Methode (Belding u. Merrill, 1935; Rucker et al., 1953; Snieszko u. Griffin, 1955; Bell, 1961; Evelyn et al., 1973; Ghittino, 1977; Ellis et al., 1978; Fryer u. Sanders, 1981).

Bullock et al. (1980) stellen jedoch fest, daß diese Methode nur ab einer Mindestbakterienzahl im Abklatsch (10^6 - 10^7 Zellen) für eine optimale Auswertung geeignet ist. Die Empfindlichkeit der Gram-Färbung ist im Vergleich zu anderen Nachweisverfahren (indirekte Immunofluoreszenz, Koagglutination, Immunodiffusion) geringer.

Bruno u. Munro (1982 u. 1986) stellen bei ihren biochemischen Untersuchungen von *Renibacterium salmoninarum* fest, daß alle Isolate Glykogen enthalten, d.h. auch auf die PAS-Reaktion positiv reagieren.

Neueste Untersuchungen von Fiedler u. Draxl (1986) zur Zellwandstruktur des *Renibacterium salmoninarum* ergeben, daß eine ausgeprägte äußere Schicht aus Polysacchariden das Bakterium umgibt.

4.3 Anzucht des Erregers

Für die Anzucht von *Renibacterium salmoninarum* sind Cystein und Serum oder Blut im Nährmedium erforderlich. Das Wachstumsoptimum liegt bei 15-18 °C (Klontz, 1982). Ordal u.Earp (1956) hatten mit einem Cystein-Blut-Agar Erfolge in der Isolierung des Bakteriums aus der Fischniere. Smith (1964), Roberts (1978), Schäperclaus (1979), und Sanders u.Fryer (1980) verwendeten diesen Nährboden.

Ein modifiziertes Müller-Hinton-Medium wurde sowohl zur Anzucht des Erregers aus Organmaterial als auch zur Kultivierung der Bakterienstämme verwendet (Ehlinger, 1963; Ghittino et al., 1977; Ellis et al., 1978; Bruno u. Munro, 1982).

Bei Temperaturen von 15 - 18 °C konnten nach 13-16 Tagen kleine, glattrandige, runde, cremeweiße bis gelbliche, mattglänzende, schleimige Kolonien beobachtet werden.

Auch das "semidefined growth medium" für *Renibacterium salmoninarum* von Embley et al. (1982), in welchem Serum bzw. Blut durch andere Komponenten ersetzt wird, brachte Erfolge bei der Kultivierung der Bakterienstämme.

Aus dem Cystein-Blut-Agar (KDM-1) nach Ordal u.Earp (1956) entwickelte Evelyn (1977) einen KDM-2-Nährboden, der inzwischen einer der gebräuchlichsten Nährböden für die BKD-Diagnostik ist. Um das Überwuchern des langsam wachsenden Bakteriums durch andere Keime zu verhindern, setzten Austin et al. (1983) Antibiotika, gegen die der Erreger resistent ist, zu einem Cystein-Serum-Agar hinzu (SKDM, Selective-KD-Medium).

4.4 Doppelimmunodiffusion (DID) nach Ouchterlony

Die Doppelimmunodiffusion mit aus Kaninchen gewonnenen Anti-KD-Seren ist eine spezifische Nachweismethode größerer Mengen von KD-Bakterien bzw. Antigen-Antikörper-Komplexen mittels Präzipitation im Gelmedium (Ouchterlony, 1958 u. 1962; Chen et al., 1974; Kimura, 1978; Schäperclaus, 1979; Fryer u. Sanders, 1981; Klontz, 1982)

4.5 Immunofluoreszenzfärbung (IF)

Die IF zum Nachweis von *Renibacterium salmoninarum* kann an Bakterienabstrichen, Organabklatschpräparaten, Gefrier- und Paraffinschnitten ausgeführt werden (Bullock et al., 1980; Schauner, 1986)

4.5.1 Direkte Immunofluoreszenz (dIF)

Das nachzuweisende Antigen reagiert direkt mit dem entsprechenden an den fluoreszierenden Farbstoff (FITC) gekoppelten Antikörper (Mayr et al., 1977). Bullock et al. (1980) erprobten die dIF erfolgreich für *Renibacterium salmoninarum* am Bakterienabstrich und Organabklatschpräparat.

4.5.2 Indirekte Immunofluoreszenz (IFAT)

Bei dieser Methode reagiert das Antigen mit nicht markierten spezifischen Antikörpern. Dieser Antigen-Antikörperkomplex wird wiederum mit für ihn spezifischen FITC-markierten Antikörpern sichtbar gemacht (Johnson u. Holborrow, 1973; Mayr et al., 1977).

4.6 Koagglutination

Durch das Koagglutinationsverfahren mittels *Staphylococcus aureus* Protein A konnte Kimura (1978) *Renibacterium salmoninarum* nachweisen.

4.7 Nachweis von Antikörpern gegen *Renibacterium salmoninarum* mittels Agglutination.

Die Agglutination ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion, die mit Bildung von großen, dreidimensionalen Komplexen einhergeht. Da diese unlöslich sind, flocken sie aus und sedimentieren unter Bildung eines Niederschlages (Mayr et al., 1977).

4.7.1 Objektträgerschnellmethode

Auf dem Objektträger werden eine Bakteriensuspension und ein Testserum vorsichtig vermischt. Die Agglutinationsreaktion zwischen Antigen und Antikörper wird mit bloßem Auge abgelesen (Roberts, 1978; Schauner, 1986).

4.7.2 Mikrotitermethode

Bei dieser Methode werden agglutinierende Antikörper im Serum durch Titration in einer Mikrotiterplatte quantitativ erfaßt (Schauner, 1986).

4.7.3 Hämagglutinationshemmungsreaktion (HAH)

Schauner (1986) weist in Fischseren hämagglutinationshemmende Serumantikörper gegen *Renibacterium salmoninarum* nach.

III. Eigene Untersuchungen

=====

Um die durch BKD verursachten pathologisch anatomischen und histologischen Veränderungen bei verschiedenen Salmoniden unter weitestmöglichem Ausschluß unbekannter Noxen vergleichen zu können, wurden Infektionsversuche an Fischen (Äschen, Bachsaiblingen und Huchen) unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Parallel zu diesen im Institut laufenden Untersuchungen wurden Äschen und Bachsaiblinge aus BKD-verseuchten Bächen bzw. Fischzuchtbetrieben verwendet.

1. Material

1.1 Versuchsfische und deren Haltung

Als Versuchsfische dienten ein- bzw. zweisömmerige Vertreter der Spezies Äsche (*Thymallus thymallus*)
Bachsaibling (*Salvelinus fontinalis*)
und Huchen (*Hucho hucho*),

welche kulturell und fluoreszenz-serologisch BKD-frei waren. Eine Woche vor Versuchsbeginn wurden die Fische in 50 Liter Glasaquarien gesetzt, um sich an die neuen Haltungsbedingungen zu gewöhnen.

Entchlortes Münchener Leitungswasser mit einer Härte von 16.4 ° dH und einer Durchschnittstemperatur von 10 °C durchlief die Becken (zirka 1 Liter pro Min., d.h. Wassererneuerung 29mal pro Tag).

Gefüttert wurde handelsübliches, pelletiertes Regenbogenforellen-Alleinfutter ad lib..

1.2 Wild- und Feldfische

Äschen und Bachsaiblinge aus freien Gewässern und Teichwirtschaften wurden lebend in das Institut gebracht und dort umgehend untersucht.

1.3 Bakterien und Medien

Die Bakterien des BKD-Stammes (ATCC 33209) wurden in sterilem PBS (Phosphate buffered saline), pH 7,5, suspendiert. In einer Zählkammer mit Einteilung nach Neubauer wurde die Zellzahl ermittelt und über weitere Verdünnung mit PBS konnte die jeweilige Infektionsdosis hergestellt werden.

Ausstriche einiger bei Fischen isolierter Bakterienkulturen wurden auf Objektträgern hergestellt, hitzefixiert, und als Vergleichsmaterial verwendet. Untersuchte Erreger: *Renibact. salmoninarum*; *Yersinia ruckeri*; *Aeromonas hydrophila*, *salmonicida*, *sobria*; *Proteus vulgaris*; *Pseudomonas alkaligenes*; *Lactobacillus piscicola*; Coryneforme Bakterien.

1.4 Applikation

Nach eintägigem Fasten wurden die Fische in 0,007 %ige Ms 222³) Lösung bzw. in 0,1 %ige Trichlorbutanol-Lösung gesetzt und nach Betaubung gemessen, gewogen und i.p. (zwischen den Bauchflossen), s.c. (caudolateral der Rückenflosse) bzw. mittels Schlundsonde peroral infiziert.

Als Beisitzer wurden in den selben Becken Fische gehalten, die keine Bakterien, sondern die entsprechende Menge PBS i.p. injiziert bekamen und durch Kurzung einer Flosse markiert wurden.

1.5 Versuchsansätze

Tabelle 2

	Versuch Nr.1	Versuch Nr.2	Versuch Nr.3	Versuch Nr.4
Spezies	Äsche	Äsche	Bachsaibling	Huchen
Applikationsart	i.p.	s.c. i.p. peroral	i.p.	i.p.
Impfdosis	3x 10 ⁷ Bakt. in 0,1ml PBS pro Tier	4x 10 ⁶ Bakt. in 0,1 bzw. 0,4ml(oral) PBS/Tier	3x 10 ⁷ Bakt. in 0,1ml PBS pro Tier	3x 10 ⁷ Bakt. in 0,1ml PBS pro Tier
Anzahl infizierter Fische	20	4 s.c. 4 i.p. 12 peroral	20	26
Anzahl Beisitzer	10		10	15
Anzahl Kontrollfische	7	8	7	18
Alter	einsömmerig	zweisömmerig	einsömmerig	einsömmerig
Ø Länge	10 cm	17 cm	11,8 cm	7 cm
Ø Gewicht	6,6 g	36,6 g	16,8 g	2,7 g

2. Methoden

Die Versuchsfische wurden täglich beobachtet. Traten deutliche Krankheitsanzeichen auf, wurden die betroffenen Fische sofort mit Ms 222[®] (0.001%ig) getötet. Ueber Nacht gestorbene Tiere wurden morgens abgesammelt und untersucht. Die Fische wurden gemessen, gewogen und seziert.

Kontrolltiere wurden in Zweimonatsintervallen getötet und wie die infizierten Fische untersucht.

2.1 Lichtmikroskopie

Teile von Nieren, Leber, Milz, Herz, Kiemen und Schwimmblase und gegebenenfalls von weiteren veränderten Organen wurden in 5 %igem gepuffertem Formalin oder in Bouin'scher Lösung fixiert und in Paraplast eingebettet.

Mit einem Schlitten-Mikrotom (Fa.R.Jung AG) wurden Schnitte von ca. 3-5 μ m Dicke hergestellt.

Routinemäßig wurde mit HE (Hämatoxylin-Eosin) gefärbt und die PAS-Reaktion ausgeführt.

Ferner dienten bedarfsweise folgende Färbungen zur Abklärung der Befunde:

- Modifizierte Gram-Färbung nach Brown-Brenn,
- Ziehl-Neelsen Färbung,
- Giemsa-Färbung,
- Kalkdarstellung n.Kossa,
- Methylenblaufärbung,
- Pilzdarstellung nach Grocott,
- Bindegewebefärbung mit Azan nach Heidenhain,
- Bindegewebesfärbung nach Mallory,
- Versilberung nach Gomori,
- Eisennachweis mit Berlinerblau.

An Bakterienausstrichen von einigen bei Fischen vorkommenden Gram-positiven und Gram-negativen Erregern (siehe Seite 14 unten) wurde die PAS-Reaktion ausgeführt.

Die Präparate wurden mit einem SM-Lux Mikroskop (Leitz) ausgewertet. Photographien konnten mit einem Photomikroskop G 41-170 (Zeiss) angefertigt werden.

2.2 Elektronenmikroskopie

Sofort nach der Tötung wurden mit Rasierklingen 1x1x1 mm große Teile der kaudalen Niere abgetrennt und in 6,25%ige Glutaraldehydlösung gebracht. Die Dauer der Fixation betrug 3-4 Stunden, dann erfolgte mehrmalige Spülung in Sörensen-Phosphat-Puffer (ph 7,4) bei Raumtemperatur (20 °C).

Außerdem wurden typische Veränderungen aus formalinfixierten und in Paraplast eingebetteten Präparaten entparaffiniert, in Sörensen-Phosphat-Puffer gespült und entsprechenden in Glutaraldehyd fixierten Organen für die Elektronenmikroskopie vorbereitet.

Anschließend wurden die Gewebsstücke 2 Stunden lang in einer Osmiumtetroxid-Lösung (OsO_4) nach Caulfield nachfixiert, dann nach mehrmaligem Spülen mit Saccharose-Pufferlösung nach Sörensen in einer aufsteigenden Acetonreihe dehydriert und in vorgetrocknete Gelatine kapseln gelegt. Darin wurden sie nach der Methode von Luft (1961) mit Epon 812 (aliphatisches Epoxid-Harz) eingebettet und ca. 4 Tage lang im Brutschrank bei 60 °C getrocknet.

Nach erfolgter Auspolimerisation des Epons konnte die Gelatine kapsel mit Wasser entfernt werden. Mit der Trimmvorrichtung TM 60 (Reichert) wurden die Präparate für die Herstellung von Semidünnschnitten (0,5-1 μm) vorbereitet. Das Schneiden erfolgte an einem Porter Blum MT-1-Ultramikrotom (Sorvell). Die Semidünnschnitte wurden mit Toluidinblau- und Safraninlösung gefärbt.

Mit einem Ultracut (Reichert-Jung) wurden die Ultradünnschnitte angefertigt und nach Reynolds mit Uranylazetat 30 Min. und mit Bleizitrat 10 Min. kontrastiert. Die Auswertung erfolgte mit einem Elektronenmikroskop EM 109 (ZEISS).

2.3 Bakteriologie

Zur Anzucht des *Renibacterium salmoninarum* (R.s.) wurden Organproben (Niere, Leber, Milz, evtl. Darm) kurz mit dem Bunsenbrenner abgeflammt, dann in einem entsprechendem Volumen (5ml/g Gewebe) sterilen Peptonwassers homogenisiert und bei 9000 Umdrehungen zentrifugiert (Schauner, 1986).

Das verbleibende Gewebshomogenisat wurde in sterilem PBS suspendiert und von 10^{-1} bis 10^{-4} verdünnt. Von jeder Verdünnungsstufe wurde je ein Tropfen auf einen SKDM-Agar (selective kidney disease medium, Austin et al., 1983) gebracht. Nach mindestens 14-tägiger Inkubation der Platten in einem Kühlbrutschrank bei $15-18^{\circ}\text{C}$ wurden die Bakterien im Nativ- und Gram-Präparat beurteilt sowie auf biochemische Reaktionen untersucht.

Die Indirekte Immunofluoreszenz (IFAT) wurde zum Nachweis des BKD-Erregers in frischem Organmaterial (durch Abklatsch) und in entparaffinierten histologischen Schnitten angewendet. Die luftgetrockneten Abklatschpräparate bzw. die entparaffinierten Schnitte wurden 10 Min. in kaltem (-20°C) Aceton fixiert. Nach erneutem Lufttrocknen wurden sie gefärbt.

Auf den Testfeldern wurde der Abklatsch bzw. der Schnitt mit einigen Tropfen eines Kaninchenantiseraums (Verdünnung 1 : 80, eigene Herstellung, s. Schauner, 1986) überschichtet und 30 Min. lang bei Raumtemperatur in der feuchten Kammer inkubiert. Das nicht gebundene Serum wurde durch dreimaliges Spülen in PBS (je 5 Min.) entfernt und das Präparat wurde dann mit dem FITC-konjugierten Antikaninchenserum (Fa. Cappel), Verdünnung 1:200, bedeckt. Inkubation und Waschen wurde wie oben beschrieben ausgeführt. Anschließend wurden die Präparate mit Glyzerinpuffer, pH 8,5, eingedeckt. Als Kontrolle diente ein Abklatschbereich auf demselben Objektträger, der an Stelle des Antiserums mit Kaninchennormalserum inkubiert wurde.

Die Auswertung erfolgte an einem Mikroskop Dialux 20 (LEITZ) mit Fluoreszenzeinrichtung (Fluoreszenzauflicht-illuminator Ploemopak 2,4, LEITZ). Das UV-Licht im Bereich von 380 nm wurde von einer Quecksilberhöchst-drucklampe (LEITZ HB Lampe 50 w/ac) erzeugt. Es wurden ein Wärmeschutz-, ein Erreger- (LEITZ BG 12) und ein Sperrfilter (K 510) verwendet.

Mikroskopiert wurde mit Oelimmersion bei 630-facher Vergrößerung.

3. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

3.1 Äschen (*Thymallus thymallus*)

3.1.1 Infektionsversuche

Zwei Versuche wurden an Äschen durchgeführt.
Versuch Nr.1 an i.p.infizierten Fischen dieser Spezies lief über einen Zeitraum von 15 1/2 Monaten.
Versuch Nr.2 an s.c., i.p. und oral infizierten Äschen dauerte 8 Monate.

3.1.1.1 Klinischer Verlauf und Symptomatik

A) Versuch Nr.1 (siehe Tabelle 3)

Die erste infizierte Äsche zeigte 29 Tage post infectionem deutliche Anzeichen eines gestörten Allgemeinbefindens und wurde getötet.

Bis zum 100.Tag erkrankten 13 Fische und wurden getötet oder starben. Eine Äsche wurde am 115.Tag p.i. im moribunden Zustand getötet. 5 infizierte Äschen, 11 Beisitzer und 8 Kontrollfische wurden ohne klinische Anzeichen einer Erkrankung getötet und untersucht.

Der klinische Verlauf der Erkrankung war in der Regel hochakut und die Fische starben innerhalb weniger Stunden mit nur geringgradigen äußerlichen Symptomen. 12 infizierte Äschen hatten eine leichte Schwellung des Abdomens, 9 Fische zeigten ein- und oder beidseitigen Exophthalmus und in 3 Fällen waren stecknadelkopfgroße Hautrötungen an der Flossenbasis (Bauch- und Afterflossen) und im Bereich des Afters zu beobachten.

B) Versuch Nr.2 (siehe Tabelle 4)

In diesem Versuch wurde Äschen eine Bakteriensuspension mittels verschiedener Techniken verabreicht. Jeweils 4 s.c. und i.p.infizierten Äschen, 3 oral infizierte Tiere sowie 2 Kontrollfische wurden untersucht. Alle s.c. (hinter der Rückenflosse) infizierten Äschen erkrankten bzw.starben 28 und 29 Tage p.i. Bei diesen Fischen fielen bohngroße abszedierende Muskelschwellungen ventro-lateral oder ventro-caudal der Rückenflosse auf.

Nach i.p.verabreichter Bakteriensuspension erlag der erste Fisch der Erkrankung am 34.Tag, und der letzte wurde 48 Tage p.i.in moribundem Zustand getötet. In zwei Fällen konnte hier eine Schwellung des Abdomens beobachtet werden. Hautrötungen im Bereich der Flossenbasis (Brust-und Afterflossen) und am After traten bei 3 Fischen auf.

Von 3 der 12 oral infizierten Äschen wurden zwei 48, und einer 174 Tage p.i. ohne klinische Symptome getötet und untersucht. Die restlichen Fische starben 7 Monate p.i. infolge eines Chlorstoßes bei Ueberlastung der Entchlörungsanlage. Wegen fortgeschrittener Autolyse konnten die Tierkörper nicht untersucht werden.

3.1.1.2 Pathologisch anatomisches Bild

A) Versuch Nr.1 (siehe Tabelle 3)

Bei 17 von 20 untersuchten i.p. infizierten Äschen fiel eine ausgeprägte Blässe der Kiemen auf, welche auf eine starke Anämie des Organismus schließen ließ.

Ein insgesamt blasser, fast weißer Magendarmtrakt fiel bei 17 Fischen auf. Der Darminhalt war wässrig, manchmal gelblich. Gelegentlich traten punktförmige Blutungen und injizierte Gefäße in diesem Bereich auf.

Nierenschwellungen konnten bei 16 Äschen beobachtet werden. Bis zum 71.Tag p.i. war bevorzugt die kaudale Niere, später die ganze Niere betroffen. Bei einem nach 10 1/2 Monaten erkrankten Fisch fielen knotige Veränderungen der gesamten Niere auf.

14 infizierte Äschen wiesen vergrößerte Milzen auf. In 6 Fällen imponierte die Blässe dieses Organs.

Milchig-trübe Serosen bildeten bei 14 klinisch erkrankten Fischen Beläge auf allen Organen der Bauchhöhle. An der Schwimmblasenwand waren weiße, knotige Veränderungen zu beobachten.

13 Äschen zeigten eine deutlich geschwollene Leber und bei 10 Fischen befand sich vermehrt wässrig klare Flüssigkeit in der Bauchhöhle.

Bei 2 subklinisch erkrankten, infizierten Fischen wirkten die hämatopoetischen Organe (Milz und Niere) durchscheinend und blaß. Einer dieser Fische hatte weißliche, ca. 1x1 cm große Zubildungen von derber Konsistenz an der lateralen Bauchwand im kranialen Bereich von Schwimmblase und Pylorusschläuchen.

Weder Kontrollfische noch Beisitzer zeigten bei der Sektion Veränderungen der inneren Organe.

B) Versuch Nr.2 (Siehe Tabelle 4)

Die innerlichen Symptome der i.p.infizierten Aschen entsprechen weitgehend denen der i.p.infizierten Aschen des Versuchs Nr.1.

Leberschwellungen konnten jedoch nicht beobachtet werden, und nur bei einem Fisch war ein Aszites mit klarer, wässriger Flüssigkeit zu diagnostizieren.

Bei s.c.infizierten Aschen traten weder Symptome eines Aszites, noch Leberschwellungen oder milchig-trübe Serosen auf. Nur ein Fisch hatte eine makroskopisch erkennbare Milzschwellung.

3 klinisch unauffällige, oral infizierte Fische sowie 2 Kontrollen zeigten keine innerlichen Symptome einer Erkrankung.

Fisch Nr.		12	23	29	36	40	44	49	45	56	57	58	60	61	66	72	73	74	75	76	79	80	81	87	100	82	97	138	107	225	112	insges.
		15	29	36	42	44	49	45	57	58	61	66	72	73	74	75	76	79	80	81	87	100	82	97	138	107	225	112	20			
Tg. post infectionem																																
gestorben										x					x	x	x					x									5	
getötet, moribund					x	x	x	x	x	x		x						x			x										10	
getötet, unauffällig		x											x								x						xx				5	
ÄUßERLICHE SYMPTOME																																
Schwellung des Abdomens					x	x	x	x	x	x	x	x						x	x				x					x			12	
Exophthalmus																																
einseitig		x																													1	
beidseitig					xx		xx	xx	xx											x									x		8	
Hautveränderungen												x								x								x			3	
Muskelschwellung																															-	
INNERLICHE SYMPTOME																																
Schwanzn.					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x																10	
NIEREN-																																
Kopfnieren																															1	
SCHWELLUNG																															5	
gesamte N.																															1	
knotig																																
Leerer, blasser Magendarmtrakt					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					xx					xx			17	
Anämie					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					xx					xx			17	
Milzschwellung																																
rot					x	x	x	x	x	x																						9
blaß																															6	
Milchig trübe Serosen					xx		xx	xx	xx	xx													xx								14	
knotige																																
Aszites					x	x	x	x	x	xx	xx																				10	
Leberschwellung					x	x	xx	xx	xx	xx	x																				13	
Milzatrophy																															1	
Nierenatrophy																															2	
Granulom in der Bauchhöhle																															1	
BAKTERIOLOGIE																																
Anzucht		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	16	
IFAT		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	18	

Tab. 4 SYMPTOMATIK und BAKTERIOLOGIE der in Versuch Nr. 2 infizierten ASCHEN

Applikationsart Fisch Nr.	s.c.infiz				i.p.infiz.				oral infiz			insges.
	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	11
Tg. post infectionem	28	28	28	29	34	44	48	48	48	48	174	
gestorben	x				x		x					3
getötet, moribund		x	x	x		x		x				5
getötet, unauffällig									x	x	x	3
ÄUßERLICHE SYMPTOME												
Schwellung des Abdomens					x		x					2
Exophthalmus												-
Hautrötungen					x	x	x					3
Abszedierende Muskelschwellungen	x	x	x	x								4
INNERLICHE SYMPTOME												
Schwanzn.	x	x	x			x	x					5
Nieren												-
Kopfnieren												-
schwellung					x	x		x				3
gesamte N.												-
knotig												-
Leerer, blasser Magendarmtrakt	x	x	x	x	x		x	x				7
Anämie	x	x	x			x	x	x				6
Milz-												
schwellung			x		x	x						3
rot												
blaß							x					1
Milchig trübe, knotige Serosen					x	x	x	x				4
Aszites					x							1
Leberschwellung												-
BAKTERIOLOGIE												
Anzucht	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	8
IFAT	nu.	nu.	nu.	nu.	+	+	+	+	nu.	nu.	nu.	4

3.1.1.3 Pathologische Histologie

A) Versuch Nr.1 (siehe Tabelle 5 u.13)

20 i.p. infizierte Äschen, 11 Beisitzer und 8 Kontrollfische wurden histologisch untersucht.

15 infizierte Fische starben oder erkrankten akut an BKD. Eine massive Durchsetzung der inneren Organe mit durch modifizierte Gram-Färbung, PAS-Reaktion und IFAT am histologischen Schnitt nachweisbare Bakterien ist zu beobachten. 5 der 20 infizierten Äschen wurden bei unauffälligem Allgemeinbefinden getötet. Bei 4 dieser Tiere konnte nach histologischer und bakteriologischer Untersuchung eine subklinische, chronische Erkrankung an BKD festgestellt werden. Im folgenden werden ausschließlich die histologischen Befunde der Organe infizierter Fische beschrieben, da Beisitzer und Kontrollfische keine pathologischen Veränderungen aufwiesen, die mit BKD in Verbindung gebracht werden können.

a) Niere

Akuter Verlauf: Bei 15 infizierten Äschen sind große Mengen von Gram- und PAS-positiven Bakterien im hämatopoetischen Gewebe extrazellulär wie auch intrazellulär zu finden. Lichtmikroskopisch sind die Bakterien enthaltenden Zellen als Makrophagen anzusprechen. Der randständige Kern ist oft durch die ausgeprägte Füllung des Zelleibs mit Bakterien kaum zu erkennen (Abb.1 u.2). Erreger und Makrophagen kommen im blutbildenden Gewebe großflächig verteilt wie auch in mehr oder weniger deutlich abgegrenzten Herden verschiedenen Ausmaßes vor. Degenerationen der Zellen der Hämatopoese und des RES sind im Vergleich zu gesunden Zellen durch eine geringere Basophilie der Kerne und verschwommene Zellgrenzen gekennzeichnet. Häufig sind pyknotische Kerne zu beobachten.

In vielen Fällen sind Herde von Bakterien und Makrophagen deutlich von Bindegewebe und Lymphozyten umgeben. Epitheloidzellen kommen in diesen Granulomen im Anfangsstadium nur vereinzelt vor (Abb.4).

Retikuläre Fasern können mit Versilberung nach Gomorri reichlich im Interstitium dargestellt werden, da sie durch Reduzierung des hämatopoetischen Gewebes in veränderten Nierenpartien deutlicher hervortreten.

Ist das intertubuläre hämatopoetische Gewebe der kaudalen Niere stark von der bakteriellen "Invasion" betroffen, so sind häufig Schädigungen des exkretorischen Gewebes zu beobachten. Diese äußern sich durch Kapillardilatationen im Glomerulum und/oder Verbreiterung des Bowman'schen Raums verbunden mit eosinophilem oder leicht PAS-positivem, homogenem oder feinstrukturiertem Inhalt im Lumen.

Auch Verdickungen der kapillären Basalmembran bzw. Ablagerungen von Substanzen im Mesangium kommen vor. Diese Veränderungen sind eosinophil und PAS-positiv. In einigen Fällen sind Bakterien und Makrophagen in den Kapillaren des Glomerulums zu finden, verbunden mit Thromben, Endothelschädigungen und Nekrose des Glomerulums.

Die abführenden Harnwege (Tubuli, Sammelkanäle, Ureteren) zeigen oft eine leichte Lumenerweiterung.

Das Tubuluslumen ist fast immer mit einer wabigen Substanz ausgefüllt, die meist eosinophil, manchmal auch PAS-positiv ist.

Verkalkungen treten nicht auf.

Hydropisch degenerierte Tubuluszellen sind häufig zu finden und stellen sich besonders im Semidünnschnitt deutlich dar.

Nekrotische Tubuli kommen hingegen selten vor.

Chronischer, subklinischer Verlauf:

Bakterien und bakterienhaltige Makrophagen sind nur vereinzelt oder garnicht zu finden.

Das hämatopoetische Gewebe, insbesondere im mittleren und caudalen Nierenbereich, scheint aufgelockert und reduziert zu sein. Gelegentlich treten eosinophile hyaline Ablagerungen oder auch freiliegende Erythrozyten an seine Stelle.

Glomerula reagieren vereinzelt stark PAS-positiv im Bereich der kapillären Basalmembran und des Mesangiums. Häufig sind die Kapillaren stark erweitert.

Die Kapillarschlingen des Glomerulums können durch Wandfibrosen und Endothelhypertrophie verquollen wirken. Daraus folgende, partielle oder vollständige Nekrosen des Gefäßknäuels sind gelegentlich zu beobachten. Vereinzelt fallen leichte, zwei- bis dreischichtige periglomeruläre Fibrosen auf.

In den abführenden Harnwegen sind Ansammlungen von PAS-positivem, feinstруктуриertem Material zu finden. Tubuluszellen mit pyknotischen Kernen und abgeflachten Zellleibern deuten vereinzelt auf Nekrose der Tubuli hin. Degenerierte Zellen sind durch vakuolisiertes Zytoplasma zu erkennen.

b) Peritoneum

Bei 16 der 20 in Versuch Nr.1 i.p. infizierten Äschen fiel eine ausgeprägte lymphozytär-proliferative Peritonitis auf. Die seröse Auskleidung der Bauchhöhle ist mit Bakterien und Makrophagen durchsetzt. Proliferation des lockeren subserösen Bindegewebes verbunden mit von granulomatösem Gewebe umgebenen Bakterien und Makrophagen-Herden sind besonders in der Submukosa der Schwimmblasenwand zu finden (Abb.5).

Sowohl massive Lymphozytenansammlungen als auch Gefäß-einsprossungen sind die Regel.

Bei einer der 4 subklinisch erkrankten Äschen fielen zwei Zubildungen an der lateralen Bauchwand im kranialen Bereich von Schwimmblase und Pylorusschläuchen auf. Histologisch können diese als Bindegewebig durchsetzte Epitheloidzellgranulome beschrieben werden. In Randgebieten kommen makrophagenähnliche Zellen mit PAS-positivem Zytoplasma vor. Nur vereinzelt sind Bakterien zu identifizieren. (Abb.9)

c) Herz (Abb.6)

Im Epikard fallen bei 13 infizierten Äschen in umschriebenen Bezirken, oft in Nähe eines Koronargefäßes, Verbreiterungen des subepithelialen Bindegewebes auf. Bakterien, Makrophagen und Lymphozyten lassen auf eine herdförmige, lymphozytäre Epikarditis schließen.

10 der infizierten Fische haben im Herzmuskel Veränderungen im Sinne einer herdförmig, lymphozytären Myokarditis. Bakterien und Makrophagen-Herde von unterschiedlichem Ausmaß, begleitet von geringgradigem Vorkommen lymphozytärer Zellen sind im Myokard von Atrium und Ventrikel zahlreich vorhanden. Im Randgebiet dieser Herde kann gelegentlich eine schollige Degeneration von Herzmuskelzellen einhergehend mit Kernpyknose und Verlust der Querstreifung beobachtet werden. In einzelnen Fällen können auch Bakterien und Makrophagen ohne Anzeichen von lymphozytärer Migration und Herzmuskeldegeneration im Myokard angetroffen werden. Im Endokard des Atriums fallen bei akutem Verlauf der Krankheit aktivierte stationäre Makrophagen auf. Bakterien, zirkulierende Makrophagen und Lymphozyten sind in den Hohlräumen zwischen dem muskulären Maschenwerk des Atriums zu finden. Bei subklinisch erkrankten Äschen können hier gelegentlich Lymphozytenansammlungen beobachtet werden.

d) Milz

Auch das Milzparenchym ist bei 13 infizierten Äschen disseminiert oder herdförmig von Bakterien und Makrophagen durchsetzt. Flächenhafte Gewebse Nekrosen, in deren Bereich pyknotische Zellkerne, Zelldetritus, Bakterien, Makrophagen und Erythrozyten massenhaft zu finden sind, fallen bei einigen Fischen auf.

Gelegentlich sind Granulome im frühen Stadium (siehe Seite 24, Niere) vorhanden.

Bei 9 Fischen hat die Milzkapsel einschichtige Auflagerungen bestehend aus Bakterien, Makrophagen, Blutzellen und Fibrin.

Oft enthalten die Sinusoide nur wenige Erythrozyten. Das lymphopoetische (hämatopoetische) Gewebe ist vorwiegend bei Fischen, die nach dem 71.Tag p.i. untersucht wurden, reduziert und retikuläre Fasern treten in den Vordergrund.

Bei subklinischem Krankheitsverlauf fallen in der Milz vermehrt makrophagenähnliche Zellen ins Auge, deren Zytoplasma stark PAS-positiv reagiert.

e) Leber (Abb.7)

Bei chronischem Krankheitsverlauf fallen in der Leber zahlreiche Bakterien- und Makrophagenherde auf. Sie können miliar in der ganzen Leber verteilt oder zu einzelnen, die Hepatozyten verdrängenden Herden akkumuliert sein. Im ersten Fall fehlen Lymphozyten, während solitäre Herde oft von Bindegewebe und Lymphozyten umgeben sind. Der Leberkapsel liegt häufig eine unterschiedlich stark ausgeprägte Schicht aus Bakterien, Makrophagen und Fibrin auf. Vorwiegend bei subklinischem Krankheitsverlauf fallen in der Leber häufig Lymphozytenherde zwischen den Hepatozytenbalken auf.

f) Gonaden

Im Interstitium von Hoden und Ovarien der infizierten Äschen befinden sich in 5 Fällen große Mengen von Bakterien und Makrophagen.

g) Auge (Abb.8)

Bei 2 Äschen (Nr.40 u.49) mit beidseitigem Exophthalmus sind im histologischen Schnitt Bakterien und Makrophagenherde in der Chorioidea deutlich zu erkennen.

h) Sonstige Befunde

In der Subkutis unter einer Hautrötung an der Bauchflossenbasis konnten bei einer Äsche (Nr.61) histologisch Bakterien und Makrophagen nachgewiesen werden.

B) Versuch Nr.2 (siehe Tabelle 6)

Histologische Befunden von Niere, Herz, Milz und Leber der s.c. und i.p. infizierten Äschen entsprechen weitgehend den bei Äschen des Versuchs Nr.1 beschriebenen Veränderungen. Zusätzlich hatten alle subkutan infizierten Fische ventral der Injektionsstelle (hinter der Rückenflosse) bohnen große abszedierende Schwellungen, die sich histologisch als schollige, von massenhaft auftretenden Bakterien und Makrophagen durchsetzte Muskelfaserdegeneration erwiesen. Nekrotische Muskelzellen und vereinzelte Lymphozyten sind in Kavernen zwischen den Muskelfaserbündeln zu finden.

Auffallend ist bei den s.c.infizierten Äschen eine im Vergleich zu den i.p.infizierten Fischen gering ausgeprägte bzw.fehlende Peritonitis. Zwei oral infizierte Fische weisen vereinzelt in der Niere Veränderungen der Glomerula auf. Partielle Nekrosen und Fibrosen sowie vermehrt PAS-positiv reagierende kapilläre Basalmembranen sind hier zu erkennen. Leicht PAS-positives Material befindet sich gelegentlich im Bowman'schen Raum und in abführenden Harnwegen. Bei einer oral infizierten Äsche befinden sich in der Leber Lymphozytenherde. Bei den Kontrollfischen konnten keine histologischen Veränderungen nachgewiesen werden.

3.1.1.4 Bakteriologie (Äschen, s.Tabellen 3,4,5,6)

Von insgesamt 24 untersuchten, i.p.infizierten Äschen (Versuch Nr.1 u.2) waren in der Anzucht 20, und in der indirekten Immunofluoreszenz (IFAT) 22 Präparate positiv. Bei einem Fisch, der wahrscheinlich vor Ablauf der Inkubationszeit getötet wurde (am 15.Tag p.i.) verliefen beide bakteriologischen Nachweisverfahren negativ.

In 2 Fällen konnte kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden, aber die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung war bei beiden Proben deutlich positiv.

Bei den s.c. infizierten Äschen verlief die Anzucht positiv.

Aus den Organen von 3 oral infizierten Äschen konnten keine Bakterien isoliert werden. Weder pathologisch-anatomische noch histologische Veränderungen waren zu finden.

12 Beisitzer und 10 Kontrollfische wurden im Äschenversuch bakteriologisch untersucht. Bei 4 Beisitzern konnte Bakterienwachstum festgestellt werden.

T A B E L L E N

zur patholog. HISTOLOGIE und BAKTERIOLOGIE
der in Versuch Nr. 1 u. 2 infizierten ÄSCHEN

A B B I L D U N G E N

B. U.

Tab. 6 HISTOLOGIE und BAKTERIOLOGIE der in Versuch Nr. 2 infizierten ASCHEN

Applikationsart		s.c.infiz.				i.p.infiz.				oral infiz.			insges.
Fisch Nr.		2	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	
Tg.post infectionem		28	28	28	29	34	44	48	48	48	48	174	
gestorben		x				x		x					3
getötet, moribund			x	x	x		x		x				5
getötet, unauffällig										x	x	x	3
NIERE	Bakterien und Makrophagen	x	x	x	x	x	x	x	x				8
	Tubulus-schädigung	x	x	x				x					4
	Schädigung der Glomerula	x	x							x		x	4
	Granulome												-
LEBER	Bakterien und Makrophagen		x	x	x	x	x	x	x				7
	Granulome						x	x					2
	Kapselbeläge		x										1
	Lymphozytenherde										x		1
HERZ	Epikarditis	x	x		x	x		x					5
	Myokarditis	x	x		x	x		x	x				6
	Lymphozytenherde im Atrium					x							1
	Bakterien und Makrophagen	x	x	x	x	x	x	x	x				8
MILZ	Bakterien und Makrophagen	x	x	x	x	x	x	x	x				8
	Kapselbeläge						x		x				2
	Degeneration u./o. Nekrose		x	x	x	x							4
	Granulome						x						1
GONADEN: Bakterien u. Makroph.interstitiell							x	x					2
Lymphozytär -proliferative PERITONITIS		x				x	x	x	x				5
Muskelnekrose		x	x	x	x								4
BAKTERIOLOGIE													
Anzucht		x	x	x	x	x	x	x	x	-	-	-	8
IFAT		nu	nu	nu	nu	x	x	x	x	nu	nu	nu	4

Abb. 1 Äsche, i.p. infiziert,
(36 Tage p.i., Versuch Nr.1, Fisch 40)

Rumpfnieren, Bakterien im intertubulären hämatopoetischen Gewebe, extrazellulär und in Phagozyten

(PAS, x 189)

Abb. 2 Ausschnitt aus Abb. 1 ,

PAS- positive Bakterien im Interstitium (→)
und in Phagozyten (◆)

(PAS , x 480)

Abb. 3 Bachsaibling, i.p. infiziert,
(103 Tage p.i., Versuch Nr.3 , Fisch 89)

Milz (M), von einer dreischichtigen Membran überzogen:

(A) äußere Schicht (Blutzellen und Fibrin),

(B) mittlere Schicht (freie u. phagozytierte Bakterien),

(C) innere Schicht (Bindegewebe, Leukozyten, Histiozyten, Epitheloidzellen),

Bindegewebsstränge (◆) ziehen strahlenartig von der Milzkapsel aus in die innere Schicht der Membran hinein.

(PAS, x 75)

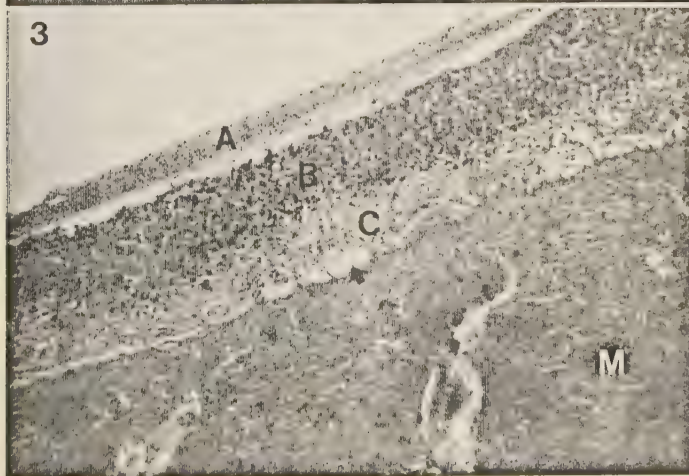
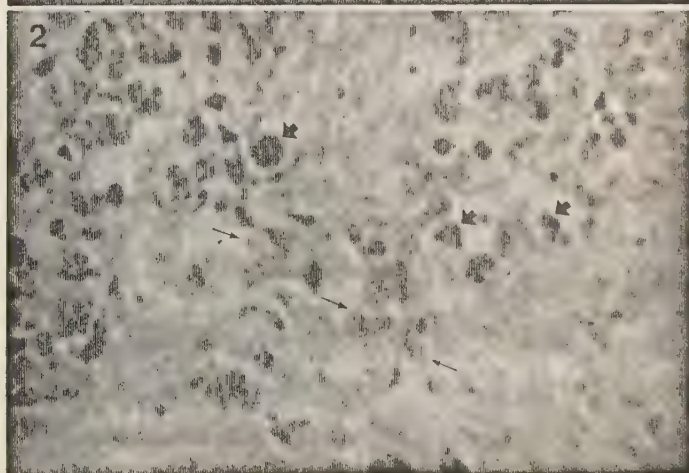
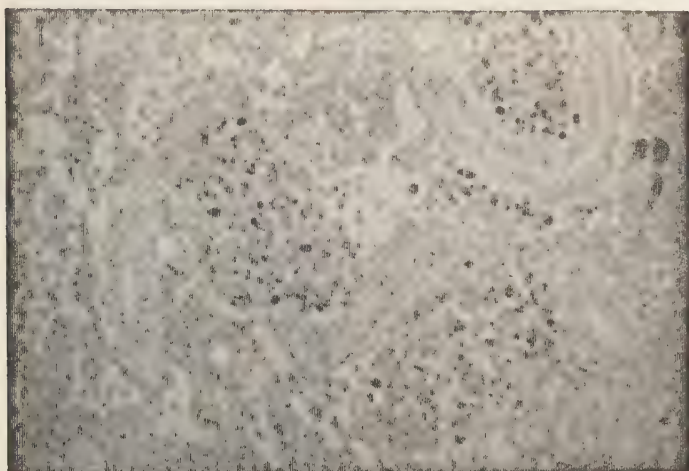


Abb. 4 Äsche, i.p. infiziert,
 (36 Tage p.i., Versuch Nr. 1 , Fisch 40)

Rumpfnieren, Epitheloidzellgranulome,
im Zentrum (Z) freie und phagozytierte Bakterien,
in der Peripherie (P) kapselbildendes Bindegewebe (♦) und vereinzelt Epitheloidzellen.

(PAS, x 189)

Abb. 5 Äsche, i.p. infiziert,
 (44 Tage p.i., Versuch Nr. 1, Fisch 49)

Bakterien und Makrophagen (B) in der Subserosa
und im Lumen (♦) der Schwimmblase.

(PAS , x 30)

Abb. 6 Äsche, i.p. infiziert,
 (44 Tage p.i., Versuch Nr. 1, Fisch 49)

Herzmuskel, Bakterien- und Makrophagenherd mit
lymphozytärer Reaktion

(PAS , x 240)

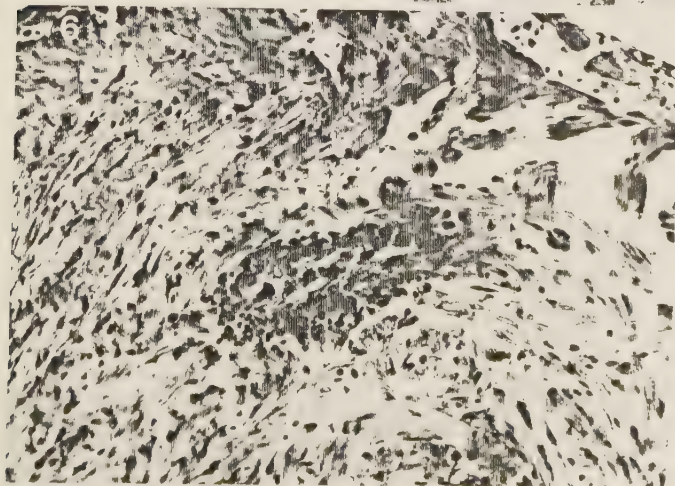


Abb. 7 Äsche, i.p. infiziert,
 (315 Tage p.i.(1), Versuch Nr. 1, Fisch 112)

Leber, Verteilungsmuster der Bakterien- und
Makrophagenherde (➤)

(H.E., x 30)

Abb. 8 Äsche, i.p. infiziert,
 (44 Tage p.i., Versuch Nr. 1, Fisch 49)

Auge, Granulom (➤) in der Chorioidea (C)

(PAS, x 75)

Abb. 9 Äsche, i.p. infiziert,
 (80 Tage p.i., Versuch Nr. 1, Fisch 79)

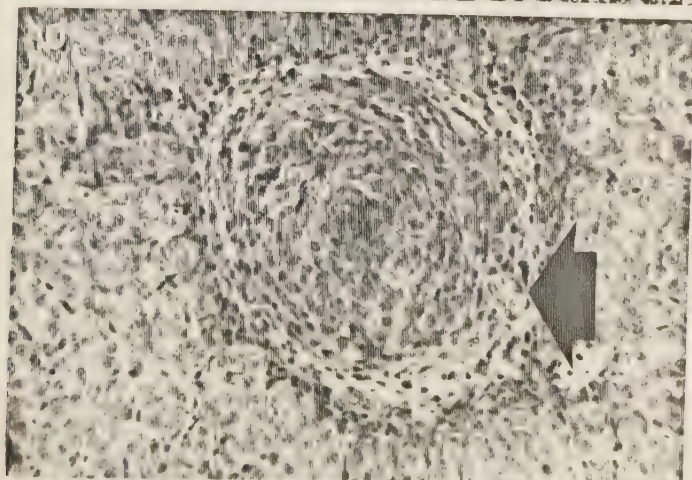
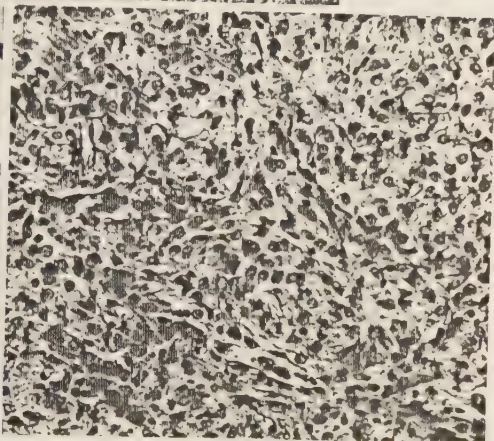
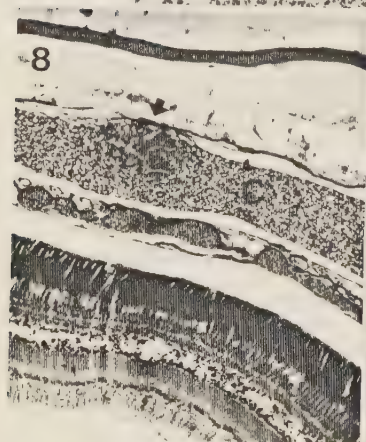
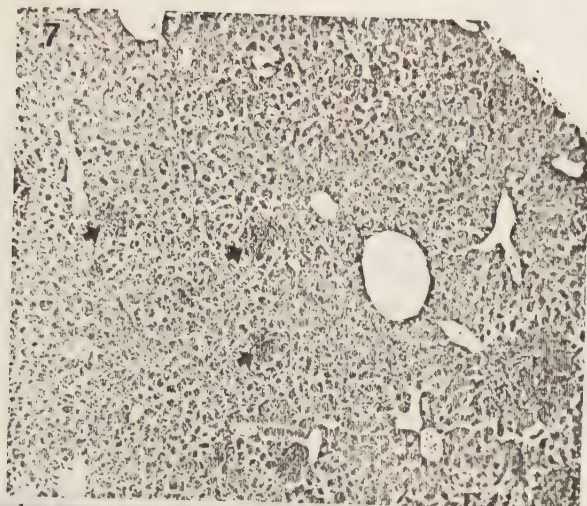
Ausschnitt aus einem Epitheloidzellgranulom
in der Bauchhöhle,
Epitheloidzellen, Bindegewebszüge,
lymphozytäre Infiltrate

(H.E., x 300)

Abb. 10 Äsche, Feldfisch,

Epitheloidzellgranulom in der Leber,
Riesenzelle (➤),

(H.E. , x 300)



3.1.1.5 Elektronenmikroskopische Befunde

Teile der kaudalen Niere von 4 per injectionem (s.c. und i.p.) infizierten Äschen und von 2 Kontrollfischen des Versuchs Nr.2 wurden elektronenmikroskopisch untersucht.

Im intertubulären hämatopoetischen Gewebe sind intra- wie extrazellulär Bakterien zu erkennen. Die insgesamt elektronendichten, kompakten Stäbchen haben eine deutlich zweischichtige Zellwand. Der innere Anteil ist elektronendicht, während außen eine feingranulierte, weniger elektronendichte Schicht aufliegt. Das Zentrum der Bakterien ist unterschiedlich stark elektronendicht strukturiert und enthält insbesondere bei kurz vor der Teilung befindlichen Zellen teilweise spiralig angeordnete, ca. 0,2 μ große, filamentöse Gebilde. In den Randzonen zur Zellwand hin sind elektronendichte Granula angeordnet (Abb.11 u.12).

Die Bakterien sind in drei unterschiedlichen phagozytierenden Zelltypen zu finden:

TYP 1: Häufig ist eine makrophagenähnliche Zelle mit randständigem, polymorphem, chromatinarmen, in der Randzone elektronendichtem Kern mit ausgeprägtem Nukleolus (Abb.14). Das Zytoplasma ist in der Regel prall gefüllt mit Bakterien, so daß Zellorganellen kaum beobachtet werden können.

TYP 2: Ein Phagozyt mit kleinem, elektronendichtem, exzentrischem Kern mit Nukleolus ist seltener zu finden. Das Zytoplasma ist, wie bei Typ 1, eindrucksvoll mit Bakterien gefüllt (Abb.16).

TYP 3: Andere, auch an der Phagozytose beteiligte Zellen haben einen großen, lichten, exzentrischen Kern mit randständig konzentriertem Chromatin und undeutlichem Nukleolus. Das Zytoplasma ist elektronenlicht und kleinblasig strukturiert und enthält nur vereinzelt Bakterien. Einzelne Mitochondrien sind vorhanden und in manchen Fällen kommen im Zytoplasma elektronendurchlässige Vakuolen verschiedener Größe vor (Abb.16).

Das Zytoplasma ist bei allen drei Zelltypen im Gebiet von Bakterienansammlungen elektronendichter als in unveränderten Bereichen und bildet teilweise faserartige, kompakte Strukturen. Geblähte und aufgebrochene Mitochondrien können in diesen Bereichen beobachtet werden.

Um phagozytierte Bakterien herum ist das Zytoplasma der Wirtszellen oft elektronendurchlässig. Strangartige Substanzen bilden ein- bis mehrschichtige Umrandungen dieser "Höfe". Myelinartige Figuren, in deren Zentren sich elektronendichte, gelegentlich filamentöse Substanzen unterschiedlicher Form befinden, sind vorhanden. Auch Bakterien können von solchen myelinartigen Figuren umschlossen sein (Abb.15).

Die Bakterien zeigen in der Mehrzahl keine Anzeichen einer Schädigung durch den Phagozyten und sie vermehren sich in diesem offensichtlich rege, denn häufig sind unterschiedlich weit fortgeschrittene Stadien der Zellwandeinstülpung im Ultradünnschnitt zu beobachten (Abb.12).

In Kapillarschlingen der Glomerula sowie in interstitiellen Blutlakunen sind Bakterien enthaltende Zellen zu finden. Im Vergleich zu Kontrollfischen ist die Basalmembran der Kapillarschlingen nicht verdickt, aber leichte Unregelmäßigkeiten der Elektronendurchlässigkeit sind hier zu erkennen. Im Zytoplasma von Endothelzellen sind vereinzelt elektronendurchlässige Vakuolen anzutreffen, und selten enthält es Bakterien (Abb.13).

In den untersuchten Präparaten fallen keine Veränderungen an der Bowman'schen Kapsel auf.

Tubulusepithelien enthalten keine Bakterien, aber besonders im basalem Bereich sind geschwollene, teils aufgebrochene Mitochondrien regelmäßig zu beobachten. Auch myelinartige Figuren kommen darin vor.

Bei infizierten Aschen wie auch bei Kontrollfischen befindet sich in der Regel mäßig elektronendichtes körnig strukturiertes Material im Tubuluslumen.

In Kontrollpräparaten ist keine der oben beschriebenen Degenerationen vom Glomerulum und von Tubulusepithelien zu erkennen.

Abb. 11 In Teilung befindliches *Renibacterium salmoninarum* im Zytoplasma eines Phagozyten.
Einstülpungen der Bakterienwand (➡)
filamentöse Strukturen (*) unbekannter Ätiologie
(ELMI , x 148 750)

Abb. 12 Bakterien nach der Teilung im Zytoplasma
eines Phagozyten.
Die äußere, elektronenlichere Polysaccharid-
schicht der Bakterienwand ist hier deutlich zu
erkennen.
(ELMI , x 87 500)

Abb. 13 Kapillarschlinge im Glomerulum,
Makrophage (M), phagozytierte Bakterien(*),
Bakterien (➡) und Vakuole (V) in Endothel-
zelle (E), Podozyten (P)
(ELMI , x 7 700)

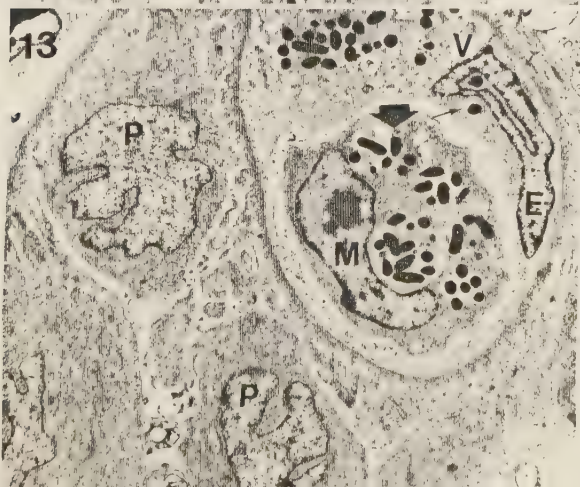
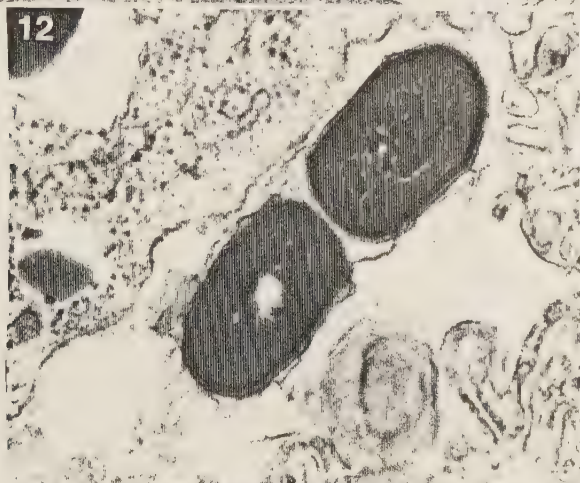
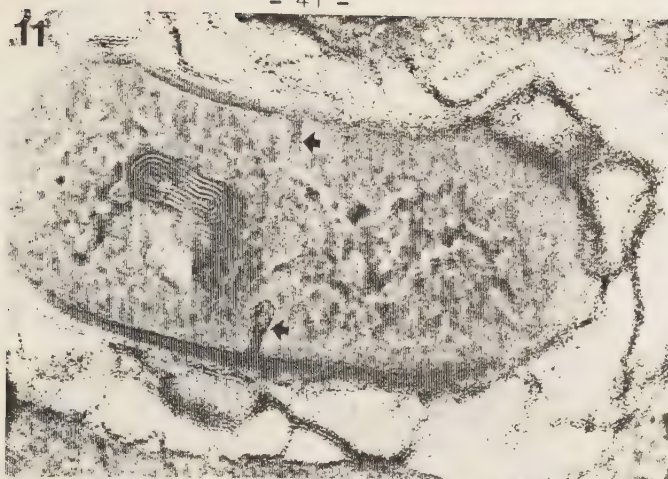
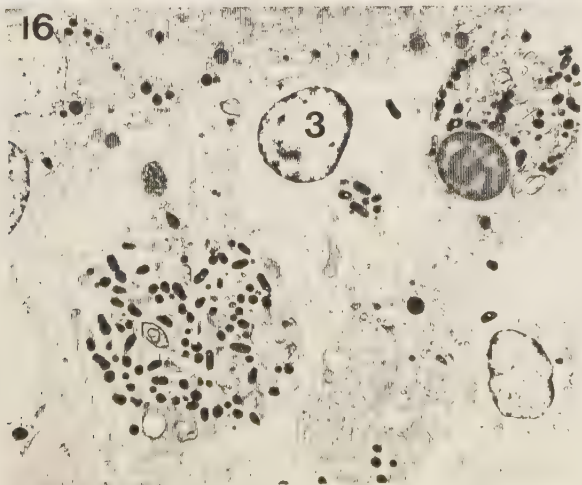
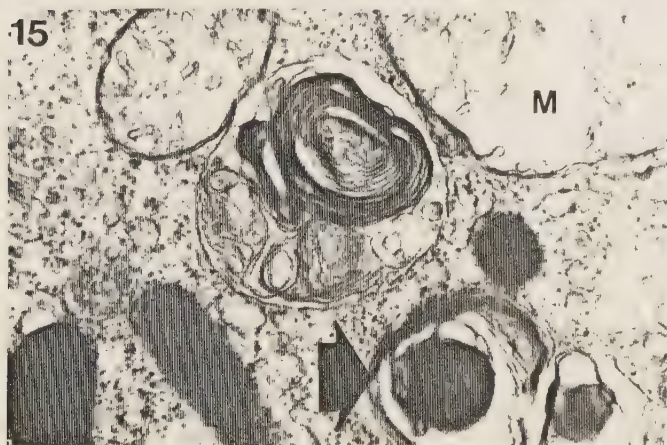
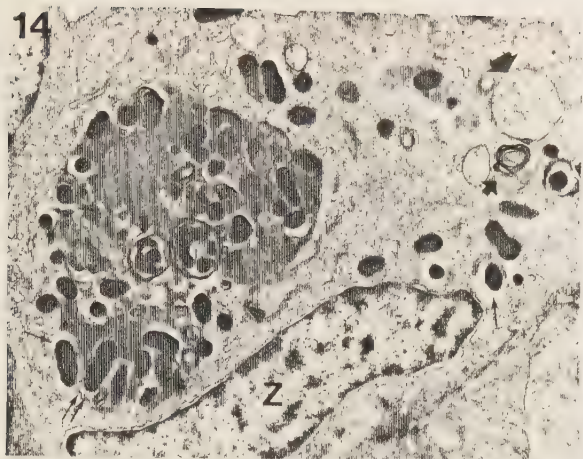


Abb. 14 Makrophage
Zellkern (Z), Bakterien im Zytoplasma,
Bakterien in Teilung ($\Rightarrow$),
myelinartige Figuren ($\blacktriangleright$),
geschwollenes Mitochondrium ($\blacktriangledown$),
"Höfe" ($\rightarrow$) um Bakterien,
(ELMI, x 12 250)

Abb. 15 Ausschnitt aus Abb. 14,
myelinartige Figuren (F),
geschwollenes Mitochondrium (M)
Bakterium ($\blacktriangledown$), von myelinartigen Figuren
umgeben,
(ELMI, x 52 500)

Abb. 16 Bakterien phagozytierende Zellen
Typ 1, Makrophage (1, Zellkern nicht angeschnitten)
Typ 2 (2)
Typ 3 (3)
(ELMI , x 7 250)



3.1.2 Wild-und Feldfische (Äschen)

3.1.2.1 Pathologische Histologie (s.Tab.6)

Bei 33 untersuchten Fischen aus Gewässern, in welchen BKD bei anderen Spezies nachgewiesen wurde, zeigen 42% in histologischen Präparaten Veränderungen der Niere im Sinne einer Glomerulonephritis.

Die Befunde variieren zwischen schwerwiegenden Nekrosen und Fibrosen des exkretorischen Gewebes und vereinzelt Degenerationen der Glomerula und Tubuli.

Hierzu sind Dilatationen, Endothelschädigungen und -proliferationen der glomerulären Kapillaren, und vermehrte PAS-positive Reaktion des Interstitiums der Glomerula, sowie Erweiterung der Zelldetritus enthaltenden Tubuluslumina zu rechnen.

Auch Dilatation der Bowman'schen Kapsel und periglomeruläre Fibrosen sind vereinzelt zu beobachten.

Im hämatopoetischen Gewebe sind Auflockerungen, intensiv durchblutete Areale und selten auch Granulome zu finden.

21% der Äschen haben interstitielle Lymphozytenansammlungen in der Leber, und bei einem Fisch ist in diesem Organ ein Epitheloidzellgranulom zu erkennen. In der Peripherie dieses Granuloms enthalten viele Zellen das Zytoplasma ausfüllende, PAS-positive, homogene Zelleinschlüsse. Eine Riesenzelle mit großblasigen, chromatinarmen Zellkernen liegt im zirkulär um das Granulom angeordneten Bindegewebe (Abb.10).

3.1.2.2 Bakteriologie (siehe Tab.6).

Bei 2 von 5 aus einem Fließgewässer (Bach 1) abgefishchten einsömmerigen Äschen ließ sich *Renibacterium salmoninarum* aus den Organen anzüchten. Auch die IFAT am Organabklatschpräparat verlief positiv.

Ein Jahr später wurden aus dem selben Bach 10 weitere Äschen untersucht. Bei diesen Fischen gelang der Nachweis des Erregers nicht, aber in der serologischen Untersuchung konnte bei allen Fischen ein deutlicher Hämagglutinationshemmtiter (bis 1:16) festgestellt werden.

Bei aus einem anderen Fließgewässer (Bach 2) stammenden Äschen, deren histologische Befunde für eine Erkrankung an BKD sprachen, waren die bakteriologischen Ergebnisse nicht eindeutig.

Tab. 7 Äschen, Wild- und Feldfische

Herkunft	Lf.Nr.	Ø Länge Ø Gewicht	Anzahl	Histologische Veränderungen	Bakteriologie
Bach 1	231 /85	19 cm 58 g	5	Lymphozytenherde in der Leber bei allen Fischen. Nr.1: Vermehrt PAS-positive Reaktion im Mesangium und an der Basalmembran der Glomerula. Nr.5: Aufgelockertes hämatopoetisches Gewebe, freie Erythrozyten in diesem Bereich. Granulome im hämatopoetischen Gewebe.	Anzucht: 2 x BKD+ IPAT: 2 x BKD+
Bach 1	78/86	28 cm 169 g	7	Nr.1, 3, 5 u. 9: Mesangium und Basalmembran vermehrt PAS-positiv. Gelegentlich Bowman'scher Raum dilatiert, periglomeruläre Fibrosen. Nr.1: Fokale Fibrose des Myo-u. Epikards. Nr.4: Lymphozytenherde in der Leber. Nr.9: Lymphozytenherde und Epitheloid-zellgranulom in der Leber. Glomerula vermehrt PAS-positiv. Detritus und Zellen im Tubuluslumen. Aufgelockertes hämatopoetisches Gewebe mit Fibrosen im Kopfnierenbereich.	Anzucht: - IPAT: - HI-Titer Nr. HI Nr. HI 3 1:8 8 1:16 4 1:16 9 1:8 5 1:8 10 1:16 6 1:8
Bach 2	84/86	33 cm 268 g	12	Nr.6, 7 u. 9: Zellproliferation und Nekrose im Glomerulum. Detritus und Zellen im Tubuluslumen.	n.u.
Fischzucht, an Bach 2	87/86	38 cm 485 g	3	Nr. 1 u. 2: Kapillarnekrosen im Glomerulum. Nr.2: Periglomeruläre Fibrose. Nr.3: Nekrotische Glomerula.	Anzucht: - IPAT: -
Fischzucht, an Bach 2	88/86	40 cm 620 g	6	Nr.2: Auffallend weite Tubuluslumina. Nr.3: Sporozyten in der Gallenblase, vereinzelt fibrotische Glomerula, Lymphozytär, herdförmige Myo-u. Epikarditis. Nr.5: Mikrothromben in glomerulären Kapillaren	Anzucht: Aeromonas salmonicida IPAT: -

Frühere Vorkommen von
BKD sind nachgewiesen

3.2 Bachsaiblinge (*salvelinus fontinalis*)

3.2.1 Infektionsversuche

13 i.p. infizierte Bachsaiblinge, 4 Beisitzer und 5 Kontrollfische wurden in Versuch Nr.3 über einen Zeitraum von 15 1/2 Monaten untersucht.

3.2.1.1 Klinischer Verlauf u. Symptomatik (s. Tabelle 7)

6 infizierte Bachsaiblinge erkrankten und wurden in moribundem Zustand getötet oder starben. Bei 4 dieser Fische, die zwischen dem 100. und 123.Tag p.i. der Krankheit erlagen, konnte ein geschwollenes Abdomen beobachtet werden. 2 am 175.Tag p.i.gestorbene bzw. im moribunden Zustand getötete Bachsaiblinge zeigten keine äußerlich sichtbaren Veränderungen. 7 infizierte Fische, 4 Beisitzer und 5 Kontrollfische wurden ohne klinische Krankheitsanzeichen getötet und untersucht.

3.2.1.2 Pathologisch anatomisches Bild (s.Tabelle 7)

Alle 4 infizierten Bachsaiblinge, die eine Schwellung des Abdomens bei der Adspektion zeigten, hatten eine geschwollene Milz und milchigtrübe, knotige Serosen verbunden mit Verklebungen der abdominalen Organe (untereinander wie an der Bauchwand).

Die Milzkapsel war in der Regel fleckig-speckig und von einem nur schwer losbaren weißen, knotigen Belag überzogen. Bei jeweils 3 der oben beschriebenen Fische konnten blasse Kiemen (Anämie), leichte Leberschwellungen und ein leerer, fast weißer Magendarmtrakt beobachtet werden.

2 infizierte, klinisch unauffällige Bachsaiblinge hatten anämische Kiemen. Bei einem dieser Fische war eine leichte Milzschwellung zu erkennen. Weder 6 weitere infizierte und untersuchte Bachsaiblinge noch Beisitzer und Kontrollfische zeigten makroskopisch erkennbare Veränderungen der inneren Organe.

3.2.1.3 Histologie (siehe Tabelle 8 und 13).

4 der 13 infizierten und untersuchten Bachsaiblinge (40%) erkrankten akut und wurden im moribunden Zustand getötet oder starben.

Histologisch ist bei 3 dieser Fische wie bei den Äschen eine Durchsetzung aller inneren Organe mit Bakterien und Makrophagen auffallend.

In der Niere sind in einem Fall Granulome im Anfangsstadium (s.Seite 24) zu beobachten. Bei allen 4 akut BKD-erkrankten Bachsaiblingen ist die Leber mit miliaren, Bakterien und Makrophagen enthaltenden Granulomen durchsetzt. Selten sind sie von einem Lymphozytenwall umgeben.

Ein für die i.p. infizierten und klinisch auffälligen Bachsaiblinge typischer Befund sind die ausgeprägten, weißen Beläge aller von Serosen überzogenen Organe.

Histologisch kann eine deutliche Schichtung dieser Membranen differenziert werden. (Abb. 3)

Leukozyten- und bindegewebsreiches, Bakterien- und Makrophagenarmes Gewebe liegt der bindegewebigen Organkapsel auf. Argrophile Fasern bilden in diesem Bereich ein weitmaschiges Netz.

Es folgt nach außen eine kompakte Schicht aus freien Bakterien und bakterienhaltigen Makrophagen. Zur Bauchhöhle hin liegen Erythrozyten, vereinzelte Bakterien und Makrophagen sowie Fibrin der Membran auf.

Im Bereich der Milz und des Milzfetts gehen diese Veränderungen so weit, daß mit Detritus und Bakterien gefüllte Hohlräume entstehen. Die Struktur der Milzkapsel ist teilweise aufgehoben und Ausläufer des Bindegewebes ziehen strahlenartig in die Beläge.

Die Milz ist zellreich und von Bakterien und Makrophagen durchsetzt, wodurch die Gliederung in weiße und rote Pulpa weitgehend verschwindet.

Die Nieren von 3 erkrankten Fischen weisen neben im hämatopoetischen Gewebe disseminiert vorkommenden Bakterien und Makrophagen Veränderungen des exkretorischen Anteils auf. Tubuli sind dilatiert und stellenweise nekrotisch. Endothelproliferationen und Nekrosen im Glomerulum sowie stark PAS-positiv reagierende Basalmembran und Mesangium im Kapillarknäuel fallen auf.

Zu letzterem ist jedoch zu bemerken, daß auch bei Kontrollsaiblingen im Vergleich zu anderen Spezies Basalmembranen der Kapillaren stärker PAS-positiv reagieren.

In der Milz von erkrankten und nicht erkrankten infizierten Bachsaiblingen werden häufig makrophagenähnliche Zellen mit PAS-positivem Zytoplasma beobachtet.

2 Fische zeigten trotz deutlicher Anzeichen eines schlechten Allgemeinbefindens in den inneren Organen keine nennenswerten Veränderungen. Lediglich geringgradige Endothelzellhypertrophie in vereinzelt Glomerula kann auftreten. Epitheloidzellgranulome kommen bei Bachsaiblingen dieses Versuches nicht vor.

Beisitzer und Kontrollfische hatten keine nennenswerten histologischen Veränderungen in den inneren Organen.

3.2.1.4 Bakteriologie (siehe Tabellen 7 und 8)

Von 20 i.p. infizierten Bachsaiblingen wurden 13 Fische bakteriologisch untersucht.

Die Anzucht der Bakterien gelang in 7 Fällen und die IFAT verlief bei 12 Abklatschpräparaten positiv.

Bei einem am 15. Tag post infectionem getöteten Fisch gelang mit keiner der angewandten Methoden der Nachweis von *Renibacterium salmoninarum*, während sich bei einem nach 29 Tagen untersuchten klinisch unauffälligen Bachsaibling ein positives fluoreszenzmikroskopisches Ergebnis nachweisen ließ.

4 der angelegten Kulturen zeigten kein Bakterienwachstum, waren aber in der IFAT deutlich positiv.

Bei 5 Beisitzern und 6 Kontrollfischen konnte weder in der Anzucht noch in der IFAT der Erreger nachgewiesen werden.

Tab. 8 SYMPTOMATIK und BAKTERIOLOGIE der in Versuch Nr. 3
i.p. infizierten BACHSAIBLINGE

insges.

Fisch Nr.	8	26	52	53	69	84	85	89	91	92	98	101	102	13
Tg. post infectionem	15	29	44	44	57	100	102	103	123	124	165	175	175	
gestorben						x	x		x			x		4
getötet, moribund								x					x	2
getötet, unauffällig	x	x	x	x	x					x	x			7
ÄUßERLICHE SYMPTOME														
Schwellung des Abdomens						x	x	x	x					4
Exophthalmus														-
Hautveränderungen														
Muskelschwellung														-
INNERLICHE SYMPTOME														
Schwanzn.														-
Nieren- Kopfnieren														-
schwellung gesamte N.						x	x	x	x					4
knotig														-
Leerer, blasser Magendarmtrakt						x	x		x					3
Anämie						x	x	x				x	x	5
Milz- fleckig						x	x	x	x					4
schwellung														
Milchig trübe, knotige Serosen						x	x	x	x					4
Aszites														-
Leberschwellung						x	x	x					x	4
Verklebungen in der Bauchhöhle						x	x	x	x					4
BAKTERIOLOGIE														
Anzucht	-	+	-	+	+	†	†	†	-	-	-	-	+	7
IFAT	-	+	+	+	+	†	†	†	+	+	†	+	+	12

Tab. 9 HISTOLOGIE und BAKTERIOLOGIE der in Versuch Nr. 3
i.p. infizierten BACHSAIBLINGE

		Fisch Nr.													insges.	
		8	26	52	53	69	84	85	89	91	92	98	101	102	13	
Tg.post infectionem		15	29	44	44	57	100	102	103	123	124	165	175	175		
gestorben							x	x		x			x		4	
getötet, moribund									x					x	2	
getötet, unauffällig		x	x	x	x	x					x	x			7	
NIERE	Bakterien und Makrophagen						x	x	x	x					4	
	Tubulus-schädigung						x	x	x						3	
	Schädigung der Glomerula							x	x				x		3	
	Granulome								x						1	
LEBER	Bakterien und Makrophagen						x	x	x						3	
	Granulome						x	x	x						3	
	Kapselbeläge						x	x	x	x					4	
	Lymphozytenherde			x								x			2	
HERZ	Epikarditis						x	x		x					3	
	Myokarditis														-	
	Bakterien und Makrophagen						x	x							2	
	Lymphozytenherde im Atrium								x						1	
MILZ	Bakterien und Makrophagen						x	x	x						3	
	Granulome								x						1	
	Kapselbeläge						x	x	x	x					4	
	Degeneration u./o. Nekrose									x	x			x	3	
GONADEN: Bakterien u. Makroph.interstitiell							x		x	x					3	
Fibrinoid-proliferative PERITONITIS							x	x	x	x					4	
BAKTERIOLOGIE																
Anzucht		-	+	-	+	+	†	†	†	-	-	-	-	+	7	
IFAT		-	+	+	+	+	†	†	†	+	+	†	+	+	12	

3.2.2 Wild- und Feldfische (Bachsaiblinge, s.Tab.10)

3.2.2.1 Pathologische Histologie

Von 30 untersuchten Fischen aus Gewässern mit BKD-Vorkommen haben 20% deutliche Symptome einer Glomerulonephritis. Ausgeprägte periglomeruläre und tubuläre Fibrosen sind bei dieser Spezies aufgefallen. Vielgestaltige Zellen mit PAS-positivem oder auch granuliertem Zytoplasma, sowie Riesenzellen kommen im fibrotischen Gewebe gehäuft vor (Abb.17).

Nekrosen und Fibrosen der Glomerula sowie erweiterte Lumina des Bowman'schen Raums und der Tubuli sind zu sehen. Häufig sind darin eosinophile Substanzen und Zelldetritus enthalten.

Kleine Granulome, mit nur wenig ausgeprägter bindegewebiger Komponente, fallen im hämatopoetischen Gewebe auf. Histologisch sind keine Bakterien darin nachweisbar.

3.2.2.2 Bakteriologie

Bei Bachsaiblingen aus einem Betrieb bzw. einem Fließgewässer, in dem ein endemisches Vorkommen von BKD nachgewiesen wurde, konnte ein deutlich erhöhter Hamagglutinationshemmtiter (HI) nachgewiesen werden.

Vereinzelte lagen die Titer bei 1:64 und 1:256, was auf eine überstandene, akute Erkrankung an BKD schließen läßt.

3.2.2.3 Elektronenmikroskopische Befunde

Die Nieren von Bachsaiblingen aus einem Fließgewässer zeigten im histologischen Schnitt eindrucksvolle fibrotische Veränderungen im Bereich der Glomerula (siehe Tabelle 10). Hier war es notwendig, ein Stück der formalinfixierten kaudalen Niere zu entparaffinieren und in Epon umzubetten.

Elektronenoptisch sind im Zentrum der gravierend veränderten Glomerula dieses Präparates Ansammlungen von Zellen mit unregelmäßigem, elektronendichtem Zellkern zu erkennen. Zellgrenzen sind durch die Umbettung schlecht dargestellt, denn das Zytoplasma ist durchzogen von Gewebsspalten.

Teilweise sind in diesen elektronendurchlässigen Spalten fußähnliche Zellausläufer zu erkennen. Zahlreiche unterschiedlich stark geschwollene Mitochondrien befinden sich im Zytoplasma dieser Zellen. In einigen Glomerula sind Wandstrukturen der Kapillaren noch zu differenzieren. Die Basalmembran ist hier unregelmäßig verdickt.

Die Basalmembran des parietalen Blattes der Bowman'schen Kapsel ist erhalten und unverändert. Das Zytoplasma der Endothelzellen enthält Vakuolen sowie Ansammlungen elektronendichten Materials. Zum interstitiellen Nierengewebe folgen mehrere Lagen langgestreckter Fibrozyten mit peripher elektronendichten Zellkernen. Auffallend sind zahlreiche Granulazellen, welche eingebettet in Fibrozyten langgestreckt erscheinen, im Gegensatz zu ihrer vielgestaltigen Zellform in den Randzonen des fibrotisch veränderten Gewebes. Die Granula sind gleichmäßig rund, von unterschiedlicher Größe, und meist homogen elektronendicht. Neben einem Melanomakrophagen erscheinen sie deutlich heller. Der Zellkern ist elektronendicht und polymorph. Das Interstitium im Randgebiet der periglomerulären Fibrosen enthält Kollagenfibrillen in großen Mengen.

—

(Abb. 18 u. Abb. 20)

Tab. 10 Bachsaiblings, Wild- und Felfische

Herkunft	Lf.Nr.	Ø Länge Ø Gewicht	Anzahl	Histologische Veränderungen	Bakteriologie	Frühere Vorkommen von BKD sind nachgewiesen.	HI-Titer : immer vereinzelte 1:8, 1:32, 1:64, 1: 256
Bach 2	25/86	31 cm 233 g	10	Nr.6: Auffallend weite Tubuluslumina, nekrotische Glomerula, Bowman'scher Raum erweitert. Nr.10: Ausgeprägte glomeruläre und periglomeruläre Fibrose. Granulome in Rumpf- u. Schwanzniere.	Anzucht: - IPAT: BKD +		
Fischzucht, an Bach 2	55/86	29 cm 255 g	10	Nr.9: Granulome im hämatopoetischen Gewebe.	Anzucht: Aeromonas sobria IPAT: -		
Fischzucht, an Bach 2	90/86	31 cm 287 g	10	Nr.6: Peritubuläre u. periglomeruläre Fibrose. Detritus im Lumen. Nr.1: Nekrotische Glomerula, Fibrin im Bowman'schen Raum. Nr.8: Periglomeruläre Fibrose. Nr.2: Detritus im Tubuluslumen, Fibrin im Bowman'schen Raum.	Anzucht: Laktobacillen IPAT: -		

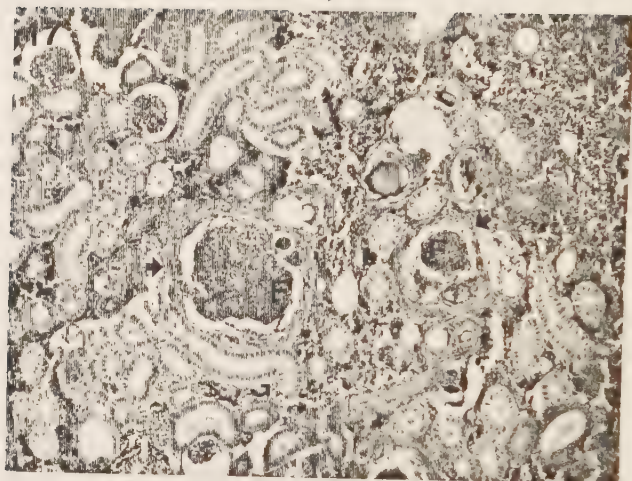
- Abb. 17 Bachsaibling, Feldfisch
 Rumpfnieren, periglomeruläre (➤) und
 glomeruläre Fibrose (F),
 Epitheloid- und Riesenzellen (→)

 (H.E., x 75)
- Abb. 18 Bachsaibling, Feldfisch,
 periglomeruläre Fibrose
 Bowman'scher Raum (B),
 mehrere Lagen Endothelzellen (E)
 Basalmembran (➤), unverändert,
 Fibrozyten (F), Granulazelle (G),

 (ELMI, entparaffiniertes Präparat, x 5 250)
- Abb. 19 Bachsaibling, Feldfisch
 glomeruläre Fibrose,
 verdickte Basalmembran (■) im Glomerulum

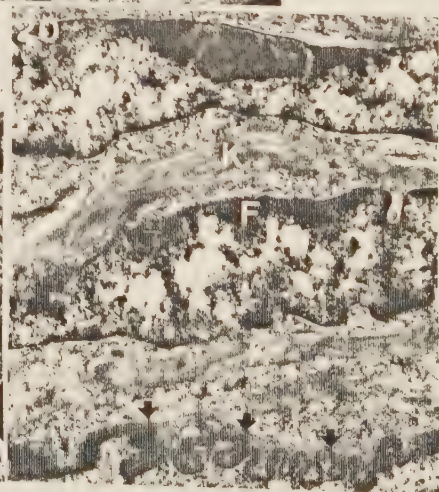
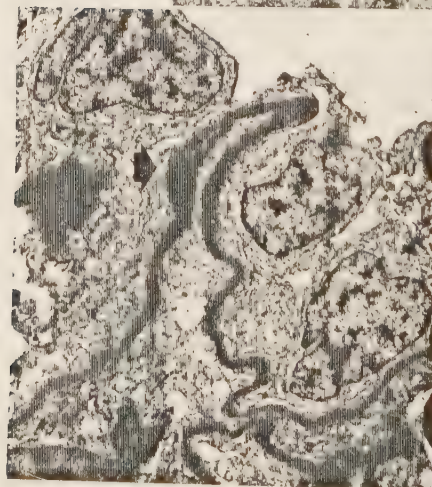
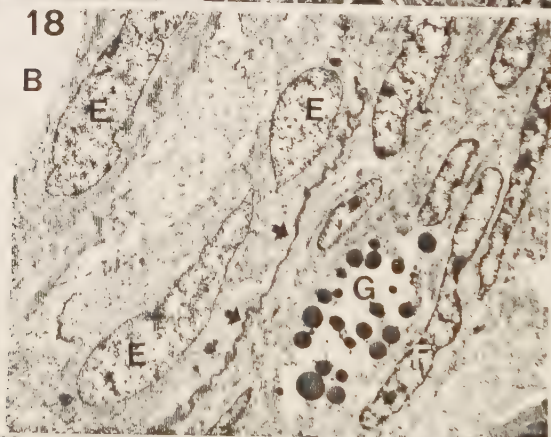
 (ELMI, entparaffiniertes Präparat, x 7 700)
- Abb. 20 Bachsaibling, Feldfisch,
 periglomeruläre Fibrose,
 Fibrozyten (F), Kollagenfibrillen (K),
 unveränderte Basalmembran (➤)

 (ELMI, entparaffiniertes Präparat, x 21 000)



18

B



3.3 Huchen (Hucho hucho)

3.3.1 Infektionsversuch

21 i.p.infizierte Huchen, 6 Beisitzer und 8 Kontrollfische wurden innerhalb von 4 1/2 Monaten untersucht.

5 Fische sprangen aus dem Becken und waren durch autolytische Vorgänge für die Untersuchung untauglich.

3.3.1.1 Klinischer Verlauf und Symptomatik (s. Tabelle 10)

20 infizierte Huchen (95%) erkrankten zwischen dem 19. und 103.Tag p.i. akut und starben innerhalb weniger Stunden oder wurden im moribunden Zustand getötet. Bei 14 dieser Fische konnte ein leicht geschwollenes Abdomen adspektorisch festgestellt werden.

2 infizierte Huchen zeigten beidseitigen Exophthalmus und in einem Fall waren stecknadelkopfgroße Hautrötungen an der Brustflossenbasis zu erkennen.

Ein 15 Tage p.i. untersuchter Fisch, wie auch alle untersuchten Beisitzer und Kontrollfische, zeigten keine klinischen Symptome einer Erkrankung.

3.3.1.2 Pathologisch anatomisches Bild (s. Tabelle 10)

19 der erkrankten Huchen waren auffallend anämisch. Bei 18 infizierten Fischen konnten geschwollene Nieren beobachtet werden. Bis zum 38.Tag p.i. war bevorzugt die kaudale Niere, und zum späteren Zeitpunkt die gesamte Niere betroffen. In einem Fall war die kaudale Niere knotig verändert.

Der Magendarmtrakt war entsprechend den anderen untersuchten Spezies bei 16 infizierten Fischen leer und blaß

Typisch für die Huchen war ein Aszites. Bei 13 erkrankten, infizierten Fischen konnte vermehrt meist klare, wässrige, gelegentlich auch blutige Flüssigkeit in der Bauchhöhle gefunden werden.

Eine Milzschwellung wurde bei 10 Fischen und eine leichte Vergrößerung der Leber bei 8 der infizierten Tiere beobachtet.

Ein 15 Tage p.i. getöteter Fisch sowie alle untersuchten Beisitzer und Kontrollfische hatten keine makroskopisch erkennbaren Veränderungen der inneren Organe.

3.3.1.3 Pathologische Histologie (Tab.11 und 13).

Bakterien und Makrophagen sind in der Regel im histologischen Schnitt der inneren Organe zu erkennen. Als erstes Organ (23 Tage p.i.) ist die Leber, als nächstes (26 Tage p.i.) die Niere betroffen, und am 29.Tag p.i. sind auch in der Milz und vereinzelt in Myo- und Epikard Erreger zu finden. Eine lymphozytäre Reaktion fehlt fast völlig. Auffallend ist bei den Huchen eine massive bakterielle Besiedelung des intertubularen hamatopoetischen Gewebes der Niere verbunden mit Zerstörung der Melanomakrophagenansammlungen. Deutlich sind bei der PAS-Reaktion braunschwarze Partikel von roten Bakterien im Bereich von geschädigten Makrophagen zu unterscheiden. Pigmentgranula und Bakterien können im Zytoplasma des gleichen Makrophagen vorkommen. Degenerationen des exkretorischen Gewebes, wie z.B. Erweiterung des Bowman'schen Raums mit zellhaltigem Inhalt, Tubulusdilatationen und Nekrosen von Glomerula und Tubuli, sowie selten auch bakterienhaltige Granulome sind in der exkretorischen Niere zu beobachten.

In den anderen Parenchymen sind lediglich miliare Bakterien und Makrophagen-Herde mit nur geringer Gewebsschädigung zu finden. Nur e i n Fisch hat Granulome im Anfangsstadium (vergleiche S.24) in der Leber aufzuweisen.

Abdominale Serosen sind bei den Huchen trotz häufig vorkommendem Aszites selten verändert. Auch Belege aus Bakterien und Makrophagen auf den Organen kommen nur sporadisch und wenig ausgeprägt vor.

Bei 2 spät erkrankten (58. und 103.Tag p.i.) Fischen sind trotz eindeutigen bakteriologischen Erregernachweis keine Bakterien in den histologischen Schnitten zu erkennen. Allerdings ist das Nierengewebe deutlich atrophisch. Das hamatopoetische Gewebe ist reduziert und Schädigungen des exkretorischen Gewebes kommen vor (Tubulusnekrosen und Epithelzellhypertrophien im Glomerulum).

Epitheloidzellgranulome sind bei den Huchen dieses Versuches nicht vorzufinden.

2 infizierte Huchen, sowie alle untersuchten Beisitzer und Kontrollfische haben keine histologischen Befunde an den inneren Organen.

3.3.1.4 Bakteriologie (siehe Tabellen 10 u.11).

In dem Versuch wurden 26 Huchen i.p. infiziert. 21 Fische wurden bakteriologisch untersucht. Durch Anzucht konnten in 19 Fällen Bakterien isoliert werden, und bei 18 Abklatschpräparaten waren deutliche Fluoreszenzen nachzuweisen. Bei 2 Fischen, die zu Beginn des Versuchs (am 15. und 16.Tag p.i.) untersucht wurden, konnte mit keiner der beiden Methoden der Erreger nachgewiesen werden. In einem Fall wurde keine IFAT ausgeführt. Hier zeigte sich jedoch bei der Anzucht typisches Bakterienwachstum.

Tab. 11 SYMPTOMATIK und BAKTERIOLOGIE der in Versuch Nr. 4
i.p. infizierten HUCHEN

[illegible]

Tab. 12 HISTOLOGIE und BAKTERIOLOGIE der in Versuch Nr. 4
i.p. infizierten HUCHEN insges.

Fisch Nr.		14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001	1002	1003	1004	1005	1006	1007	1008	1009	1010	1011	1012	1013	1014	1015	1016	1017	1018	1019	1020	1021	1022	1023	1024	1025	1026	1027	1028	1029	1030	1031	1032	1033	1034	1035	1036	1037	1038	1039	1040	1041	1042	1043	1044	1045	1046	1047	1048	1049	1050	1051	1052	1053	1054	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344	1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	1380	1381	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	1390	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	1400	1401	1402	1403	1404	1405	1406	1407	1408	1409	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429	1430	1431	1432	1433	1434	1435	1436	1437	1438	1439	1440	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448	1449	1450	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1457	1458	1459	1460	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467	1468	1469	1470	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477	1478	1479	1480	1481	1482	1483	1484	1485	1486	1487	1488	1489	1490	1491	1492	1493	1494	1495	1496	1497	1498	1499	1500	1501	1502	1503	1504	1505	1506	15
-----------	--	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	----

Tabelle 13 Zusammenfassung histologischer Befunde
der infizierten Fische aller untersuchten Spezies

Versuch Nr.	1	2			3	4	
Spezies	Äschen	Äschen	Äschen	Bachsaihl.	Huchen		
Applikationsart	i.p.	i.p.	s.c.	oral	i.p.	i.p.	
Anzahl unters.Fische	20	4	4	3	13	21	
gestorben	5	3	1		4	16	
getötet, moribund	9	1	3		2	9	
getötet, unauffällig	6			3	7	1	
Bakterien und Makrophagen	16	4	4		4	16	
NIERE	Tubulus-schädigung	14	1	3	3	12	
	Schädigung der Glomerula	12		2	2	3	12
	Granulome	7				1	4
	Bakterien und Makrophagen	12	4	3		3	16
LEBER	Granulome	4	2			3	1
	Kapselbeläge	11		1		4	7
	Lymphozytenherde	2			1	2	
HERZ	Epikarditis	13	2	3		3	7
	Myokarditis	10	3	3			2
	Bakterien und Makrophagen	14	4	4		2	6
	Lymphozytenherde im Atrium	7	1			1	1
	Bakterien und Makrophagen	13	4	4		3	12
MILZ	Granulome	1	2			1	
	Kapselbeläge	9	2			4	2
	Degeneration u./o. Nekrose	9	1	3		3	5
Peritonitis	16	4	1		4	4	
Gonaden: Bakterien u. Makroph. interstitiell	5	2			3		

L E G E N D E

zu den Tabellen 3 bis 13

x	wurde beobachtet
xx	wurde sehr ausgeprägt beobachtet
n.u.	nicht untersucht
+	positiv
‡	stark positiv
‡‡	stark positiv, besonders gutes Präparat
-	negativ

IV. Diskussion =====

Bisher wurde die Bakterielle Nierenerkrankung (BKD, Bacterial Kidney Disease) bei Salmoniden der Genera *Oncorhynchus*, *Salmo* und *Salvelinus* ausführlich beschrieben (Klontz, 1982).

Seit 1983 Hoffmann über das Vorkommen von BKD in der Bundesrepublik Deutschland berichtete, erschien es notwendig, die Rolle der einheimischen Salmoniden bei der Verbreitung der Krankheit zu klären.

Aus diesem Grund wurden Versuchsfische und Wild- und Feldfische der einheimischen Spezies Äsche (*Thymallus thymallus*) und Huchen (*Hucho hucho*), sowie hier eingebürgerte Bachsaiblinge (*Salvelinus fontinalis*) untersucht.

Versuche ergaben, daß per injectionem infizierte Äschen und Huchen, im Gegensatz zu vorherigen Berichten zur Spezies *Thymallus* (Klontz 1982), hochempfindlich auf den Erreger der BKD reagierten. Die Morbidität betrug bei den Äschen 96,4 % und bei den Huchen 95 %.

Von parenteral infizierten Bachsaiblingen erkrankten dagegen nur 38,5 % an BKD, während bei 61,5 % der infizierten Fische nur die bakteriologische Untersuchung positiv verlief, ohne daß die Krankheit zum Ausbruch kam.

Bei Beisitzern der drei untersuchten Spezies war keine klinische Erkrankung feststellbar, und bakteriologisch waren nur einzelne Fische BKD-positiv.

Oral infizierte Äschen zeigten keine histologischen Veränderungen. Bakteriologisch konnte der Erreger nicht nachgewiesen werden.

Bei klinisch gesunden Äschen und Bachsaiblingen aus freien Gewässern bzw. Teichwirtschaften konnte vereinzelt *Renibacterium salmoninarum* aus den Organen isoliert werden. Serologische Untersuchungen ergaben deutlich erhöhte Antikörpertiter. Dieses deutet auf eine vorhergegangene Auseinandersetzung des Organismus mit den Bakterien hin (Schauner, 1986).

Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß auch Äschen unter natürlichen Bedingungen zumindest als Carrierfische für die Verbreitung der BKD eine Rolle spielen.

Bei Huchen (Pfeil-Putzien et al., 1985a u.b) und Bachsaiblingen (Fryer u.Sanders, 1981; Klontz, 1982) ist diese Carrierfunktion schon bekannt.

Bei Bachsaiblingen aus nordamerikanischen Teichwirtschaften wurde jedoch über hohe Ausfallraten durch BKD berichtet (Belding u.Merrill, 1935; Wood u.Yasutake, 1956; Fryer u.Sanders, 1981). Diese Empfindlichkeit auf den Erreger konnte bei Bachsaiblingen in unserem Versuch nicht bestätigt werden.

Bachsaiblinge sind in der BRD nicht einheimisch. Die hier lebende Population stammt von aus Nordamerika eingeführten Bachsaiblingen ab. Eine im Vergleich zu Äschen und Huchen geringere Empfindlichkeit der hiesigen Stämme dieser Spezies für BKD könnte aufgrund von Selektion der widerstandsfähigeren Exemplare entstanden sein.

Veröffentlichungen zu Untersuchungen anderer Salmoniden-spezies (Fryer u.Sanders, 1981; Klontz, 1982), in welchen berichtet wird, daß Fische unter guten Haltungsbedingungen zwar nicht unter Symptomen der BKD erkranken, wohl aber Träger des Erreger sein können, werden durch unsere Untersuchung bestätigt. Einwirkung von Stress (hohe Besatzdichte, Umsetzen, O₂ Mangel, Temperaturschwankungen) kann ein Auf-flammen der schon lange zurückliegenden Infektion hervor-rufen.

Der klinische Verlauf der Erkrankung bei parenteral infi-zierten Äschen, Huchen und Bachsaiblingen im Versuch war meist akut.

Das histologische Bild ist bei diesen Fischen weitgehend geprägt durch massive Bakterien- und Makrophagenansamm-lungen in allen inneren Organen.

Vorwiegend Äschen neigen auch bei dieser akuten Verlaufs-form zur Bildung von Granulomen, welche sich histologisch aus zentralen Bakterien- und Makrophagenansammlungen um-geben von Histiozyten und Epitheloidzellen zusammensetzen. Gelegentlich sind sie von zirkulär angeordneten Binde-gewebsfasern umgeben.

Bei der chronisch-subklinischen Verlaufsform kamen im Ver-such bei einer per injectionem infizierten Äsche Epithe-loidzellgranulome in der Bauchhöhle zwischen lateraler Bauchwand und Schwimmblase vor.

Bei nicht klinisch erkrankten Feldfischen der Spezies Äsche und Bachsaibling aus BKD-endemischen Gewässern waren vereinzelt Epitheloidzellgranulome in Niere und Leber zu finden.

Im histologischen Aufbau der bei parenteral infizierten Versuchsfischen wie auch bei Feldfischen vorkommenden Granulome sind Parallelen zur produktiv-proliferativen Form der TBC der Säugetiere zu ziehen (Sandersleben et al., 1981). Ebenso wird der Eindruck des Ablaufs einer histio-lymphozytären Form der hyperergischen Entzündung ähnlich der TBC vermittelt (Sporri u. Stunzi, 1969).

Zur Beurteilung der granulomtösen Veränderungen muß beachtet werden, daß bei Fischen proliferative Entzündungsreaktionen mit nachfolgenden Fibrosen häufig zu beobachten sind (Corbel, 1975; Roberts, 1978). Granulombildungen sind für eine Anzahl von fischpathogenen Bakterien (z.B. Mykobakterien, Nocardien, Vibrionen) typisch (Roberts, 1978; Amlacher, 1981; Kubota, 1985). Sie können auch durch Pilze und Parasiten ausgelöst werden (Wood et al., 1955; Corbel, 1975; Roberts, 1978; Roberts u. Schlotfeldt, 1985).

Darum ist zur sicheren Klärung der Ätiologie von Granulomen unbedingt eine eindeutige mikrobiologische bzw. parasitologische Diagnose zu stellen.

Eine diese erschwerende Tatsache ist aber, daß beim chronischen Verlauf der BKD die Epitheloidzellgranulome nicht direkt von nachweisbarem Bakterienvorkommen begleitet sein müssen. Hierfür können möglicherweise folgende Eigenschaften des *Renibacterium salmoninarum* verantwortlich sein :

1) Eigene elektronenmikroskopische Untersuchungen von akut erkrankten, parenteral infizierten Äschen zeigen deutlich, daß die Bakterien sich in Makrophagen sowie anderen Phagozyten vermehren können. Nur in seltenen Fällen sind Bakterien von der enzymatischen Aktivität der Zellen geschädigt. Faserige, um den morphologisch unveränderten Erreger "Höfe" bildende zytoplasmatische Strukturen konnten Anfänge einer Abkapselung und somit "Konservierung" des Erregers im Makrophagen sein.

Laut Heymer und Haferkamp (1980) ist es typisch für Granulombildungen induzierende Erreger, daß sie bakterizide Mechanismen der Wirtszellen neutralisieren und so intrazellulär, z.B. in Makrophagen, überleben können. Dadurch ist auch im Zuge einer chronischen, unspezifischen Entzündungsreaktion oder auch einer Immunreaktion die dauerhafte Anwesenheit des Erregers gewährleistet. Bakteriologische Nachweise werden durch diese intrazelluläre Persistenz erschwert. Auch ist anzunehmen, daß die Resistenz des Erregers gegen Bekämpfungsmaßnahmen auf dieser Beobachtung beruht.

2) Eine in dem Ausmaß noch bei keinem anderem Bakterium beobachtete Polysaccharidschicht umgibt das Renibacterium salmoninarum (Kusser u.Fiedler, 1983). In eigenen elektronenmikroskopischen Untersuchungen ist diese als deutliches, im Vergleich zur inneren Schicht der Zellwand elektronenlichtes Band zu erkennen.

Die Antigenität der äußeren Polysaccharidschicht von Renibacterium salmoninarum bei Kaninchen ist experimentell erwiesen (Fiedler u.Draxl, 1986). Auch durch Polysaccharide allein (z.B.nach Auflösung der Zellwand des Bakteriums) werden vermutlich Abwehrmechanismen im Organismus der Fische aktiviert. In wie weit allerdings auch eine zusätzliche antigene Wirkung von Proteinen der Zellwand eine Rolle spielen, ist noch fraglich (Chen et al, 1974; Fiedler u. Draxl, 1986). Laut Haferkamp (1980) kann ein die Granulombildung induzierendes Agens auch eine leblose Matrix sein, welche durch Ueberempfindlichkeitsreaktionen des Organismus oder lediglich aufgrund ihrer Unverdaulichkeit Fremdkörpergranulome hervorruft. Auf diese Art könnten auch Zellwandbruchstücke von Renibacterium salmoninarum granulomatöse Veränderungen bei chronisch an BKD-erkrankten Fischen hervorrufen, ohne daß der Erreger histologisch und bakteriologisch nachweisbar ist.

Auf die typische Polysaccharidschicht des Erregers der BKD ist offensichtlich die Tatsache zurückzuführen, daß der Erreger, wie auch Bruno und Munro (1986) im Bakterienausstrich feststellten, deutlich PAS-positiv reagiert. Durch eigene Untersuchungen ist die hervorragende Eignung der PAS-Reaktion zur Darstellung von Renibacterium salmoninarum am Paraffinschnitt erkannt worden. Andere, bei Fischen vorkommende, Gram-positive und Gram-negative Bakterien wie

Yersinia ruckeri, *Aeromonas hydrophila*, *Ae. salmonicida*, *Ae. sobria*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Lactobacillus piscicola* und coryneforme Bakterien unbekannter Spezies reagierten im Ausstrich PAS-negativ. Durch die leuchtend rote Färbung von *Renibacterium salmoninarum* (auch im phagozytiertem Zustand) bei PAS-Reaktion ist selbst eine geringe Anzahl der Erreger im histologischen Schnitt schnell zu erkennen, auch wenn noch keine Gewebsreaktionen sichtbar sind.

Regelmäßig haben wir aber histologische Veränderungen im Sinne einer Glomerulonephritis beobachtet. Bei parenteral infizierten Versuchsfischen aller untersuchten Spezies bot sich am Schnitt vereinzelt das Bild einer akuten, vorwiegend membranösen oder proliferativen Glomerulonephritis. Aufquellung und Verbreiterung der kapillären Basalmembran bzw. Endothelproliferationen im Glomerulum sind hierfür beim Menschen typische Befunde (Sandritter u. Schorn, 1965). Häufig war bei BKD-verdächtigen, klinisch gesunden Äschen und Bachsaiblingen der Felduntersuchungen eine vorwiegend subakute bis chronische Form der Glomerulonephritis zu diagnostizieren. Insbesondere periglomeruläre und glomeruläre Fibrosen sowie stark PAS-positive Reaktionen der Kapillarschlingen des Glomerulums, wie auch amorphe Substanzen in Tubuli und Bowman'schem Raum sind typisch bei diesen Fischen. Amyloidablagerungen an der Basalmembran wurden durch Polarisationsmikroskopie ausgeschlossen.

Auch eigene elektronenmikroskopische Untersuchungen der im Sinne einer Glomerulonephritis veränderten Niere eines Bachsaiblings aus BKD-verseuchtem Gewässer ließen eine verdickte Basalmembran der Kapillarschlingen im Glomerulum erkennen.

In der Ätiologie der Glomerulonephritiden bei Menschen und Haussäugetieren spielen u. a. häufig chronische virale, bakterielle und parasitäre Erkrankungen eine Rolle (Osborne et al., 1977). Veränderungen der Kapillarschlingen im Glomerulum können durch epitheliale, endotheliale und mesangiale Zellhyperplasien, durch Vermehrung der mesangialen Matrix und durch Substanzablagerung im Bereich der Basalmembran hervorgerufen werden. Bei den Ablagerungen handelt es sich um Ansammlungen von Amyloid oder von löslichen, zirkulierenden Antigen-Antikörperkomplexen. Sie können auf der Seite des Endothels, des Epithels oder im Mesangium vorkommen.

Klinische Folge der Glomerulonephritis ist eine Proteinurie, hervorgerufen durch Permeabilitätsänderungen der Kapillaren (Sandritter u.Schorn, 1965; Osborne et al., 1977).

Zur Ätiologie von Glomerulonephritiden bei Fischen diskutieren auch Meyers und McPherson (1985) in ihrem Bericht über die Untersuchung von Chinook-Lachsen, daß chronische Nierenveränderungen Folgen einer Überstandenen Erkrankung sein können. BKD als Ursache für die histologisch diagnostizierten Glomerulonephritiden dieser Fische konnte nicht ausgeschlossen werden, zudem sie aus einem BKD-endemischen Gewässer stammten (Meyers, 1986, pers.Mitteilung).

Daß immunologische Vorgänge bei Veränderungen der Glomerula auch bei Fischen eine Rolle spielen, ist durch die Ergebnisse der ultrastrukturellen Untersuchungen von Young u.Chapman (1978) und Elger u.Hentschel (1983) wahrscheinlich geworden. Bei an BKD-erkrankten Bachsaiblingen fanden Young und Chapman (1978) geflockte, elektronendichte Ablagerungen im subendothelialen Raum der Kapillärwände des Glomerulums, welche sie als Antigen-Antikörperkomplex ähnliche Substanzen beschreiben. Bei mutmaßlich an chronischer VHS-erkrankten Regenbogenforellen entdeckten Elger und Hentschel (1983) entsprechend geartete und lokalisierte Veränderungen, die als Immunkomplexablagerungen diskutiert werden. Auch die ausgeprägten Glomerulonephritiden bei Feldfischen unserer Untersuchungen deuten auf mögliche immunologische Vorgänge im Krankheitsgeschehen der BKD hin.

Abschließend läßt sich sagen, daß Äschen wie auch Huchen im Gegensatz zu Bachsaiblingen im Versuch hochempfindlich auf den per injectionem verabreichten BKD-Erreger reagieren. Obwohl bei keiner Äsche im Rahmen unserer Felduntersuchungen klinische Anzeichen einer Erkrankung an BKD beobachtet wurden (kranke Fische werden im freien Gewässer schnell eliminiert und sind selten anzutreffen), sprechen histologische und bakteriologische Ergebnisse für die Funktion der Äsche als Carrier von Renibacterium salmoninarum.

Glomerulonephritiden, die insbesondere bei der chronischen Verlaufsform im histologischen Bild der BKD regelmäßig zu beobachten sind, deuten auf spezifische Immunreaktionen des Organismus gegen Renibacterium salmoninarum hin.

Kombiniert mit der bakteriologischen Untersuchung ist die PAS-Reaktion am histologischen Schnitt eine gute Nachweismethode des Erregers.

V. Zusammenfassung
=====

Die in Westeuropa einheimischen Salmonidenspezies Äsche (*Thymallus thymallus*) und Huchen (*Hucho hucho*) sind, im Gegensatz zu den Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*), hochempfindlich auf das parenteral verabreichte *Renibacterium salmoninarum*.

Der Krankheitsverlauf war bei parenteral infizierten Äschen meist, und bei Huchen immer akut. Per injectionem infizierte Bachsaiblinge dagegen erkrankten subakut an BKD.

Beisitzer der untersuchten Spezies zeigten weder klinisch noch histopathologisch Anzeichen einer Erkrankung, auch dann nicht, wenn das Bakterium isoliert werden konnte.

Histologisch imponieren bei allen untersuchten, parenteral infizierten Fischen große Mengen von Bakterien in allen parenchymatösen Organen. Diese Bakterien sind extrazellulär und in Makrophagen zu finden.

Granulombildungen sind insbesondere bei Äschen zu beobachten.

Unterschiedlich dicke Membranen bedeckten, vor allem bei i.p. infizierten Bachsaiblingen, die inneren Organe.

Erste Anzeichen einer chronischen Glomerulonephritis sind bei einigen infizierten Versuchsfischen vorhanden.

Bei klinisch nicht erkrankten, bakteriologisch vereinzelt BKD-positiven Feldfischen der Spezies Äsche und Bachsaibling fallen hingegen häufig chronische Glomerulonephritiden auf. Auch Epitheloidzellgranulome kommen in Niere und Leber vor.

Bei parenteral infizierten Fischen ist *Renibacterium salmoninarum* elektronenmikroskopisch in Makrophagen und zwei anderen Phagozythentypen zu finden. Verschiedene Teilungsstadien der Bakterien sind im Zytoplasma der Phagozyten oft anzutreffen.

VI. Summary
=====

Histological survey of Bacterial Kidney Disease
(BKD) of Salmonides especially related to
Grayling (*Thymallus thymallus*).

The Grayling (*Thymallus thymallus*) and the Hucho (*Hucho hucho*), two of the native species of Salmonids in Western Europe, proved - unlike the Brook Trout (*Salvelinus fontinalis*) - to be highly susceptible to parenteral infection by *Renibacterium salmoninarum*.

The course of disease almost always turned out acute regarding parenterally infected graylings, whereas huchos got acutely ill all the time. However, brook trouts fell ill with BKD in a subacute manner.

All the examined contact fish of the above three species have shown neither clinical nor histological symptoms of the disease. Neither so in the case of the bacteria being isolated.

In all the histologically examined parenterally infected fish a large quantity of bacteria - internal and external of the macrophages - were detected in parenchymatous tissue.

There have been formations of granuloma especially with grayling.

Membranes varying in thickness covered - particularly so with i.p. infected brook trouts - the internal organs.

Some of the infected test fish showed first signs of chronic glomerulonephritis.

In field cases, however, some of the graylings and brook trouts taken out of water where BKD is endemic, chronic glomerulonephritis was frequently observed, sometimes combined with granulomas of epithelioid cells in liver and kidney.

Under electron-microscope, *Renibacterium salmoninarum* was visible in macrophages and in two different types of phagocytes of parenteral infected test fish. Various dividing stages of the bacterium were often found in the cytoplasm of phagocytes.

VII. Literaturverzeichnis

=====

- Amlacher, E., (1981) :
Taschenbuch der Fischkrankheiten, 4. Auflage.
Gustav Fischer Verl. Stuttgart-New York, NY.
- Austin, B., Embiey, T.M. and Goodfellow, M. (1983) :
Selective isolation of *Renibacterium salmoninarum*
FEMS Microbiol.Lett. 17, 111-114
- Belding, D.L. and Merrill, B. (1935) :
A preliminary report upon a hatchery disease of
the salmonidae
Trans.Am.Fish.Soc. 65, 76-84
- Bell, G.R. (1961) :
Two epidemics of apparent kidney disease in
cultured Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*)
J.Fish.Res.Board Can. 18, 559-562
- Bendele, R.A.Jr. and Klontz, G.W. (1975) :
Histopathology of teleost kidney disease
In: Ribelin, W.E., and Migaki, G.,
The Pathology of Fishes, The University of
Wisconsin Press, London; 365-382
- Brown, J.H., Brenn, L. (1931) :
A method for the differential staining of gram-
positive and gram-negative bacteria in tissue
sections
Bull.John Hopkins Hosp., 48, 69-73
- Brown, R.C. and Hopps, H.C. (1973) :
Staining bacteria in tissue sections. A reliable
gram stain method
Am.J.Clin.Pathol. 60, 234-240
- Bruno, D.W. and Munro, A.L.S. (1982) :
Detection of the causative agent of bacterial
kidney disease
Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 2, 10-12
- Bruno, D.W. and Munro, A.L.S. (1986) :
Uniformity in the biochemical properties of
Renibacterium salmoninarum isolates obtained
from several sources
FEMS Microbiol.Lett., 33, 247-250
- Bullock, G.L., Conroy, D.A. and Snieszko, S.F. (1971) :
Bacterial diseases of fishes
In: Bullock, G.L. and Axelrod, H.R.
Diseases of Fishes, Book 2 A, T.F.H.Publ., N.Y.

- Bullock, G.L., Griffin, B.R. and Stuckey, H.M. (1980) :
Detection of corynebacterium salmoninus by
direct fluorescent antibody test
Can.J.Fish.Aquat.Sci. 37, 719-721
- Chen, P.K., Bullock, G.L., Stuckey, H.M. and Bullock, A.C.
(1974) :
Serological diagnosis of corynebacterial kidney
disease of salmonids.
J.Fish.Res.Board Can., 31, 1939-1940
- Corbel, M.J. (1975) :
The immune response in fish: a review
J.Fish.Biol. 7, 539-563
- Culling, C.F.A. (1974) :
Handbook of histopathological and histochemical
technique
Butterworths, London
- Earp, B.J., Ellis, C.H. and Ordal, E.J. (1953) :
Kidney disease in young salmon
Wash.Dpt.Fish.Spec.Rep.Ser.Nr.1, 74
- Ehlinger, N.F. (1963) :
Kidney disease in lake trout complicated by
lymphosarcoma
Prog.Fish.Cult. 25, 3-7
- Elger, M. and Hentschel, H. (1983) :
Glomerula disease in cultured rainbow trout,
Salmo gairdneri Richardson, suffering from
presumptive chronic viral haemorrhagic septi-
caemia. J.Fish.Dis.6, 211-229
- Ellis, R.W., Novotny, A.J., and Harrell, L.W. (1978) :
Case report of kidney disease in wild Chinook
Salmon, Oncorhynchus tshawytscha, in the sea
J.Wildl.Dis., 14, 120-123
- Embley, T.M., Goodfellow, M., and Austin, B. (1982) :
A semi-defined growth medium for Renibacterium
salmonarium.
FEMS Microbiol.Lett. 14, 299-301.
- Evelyn, T.P.T. (1977) :
An improved growth medium for the kidney disease
bacterium and some notes on using the medium
Bull.Off.Int.Epiz. 87, 511-513
- Evelyn, T.P.T., Hoskins, G.E., and Bell, G.R. (1973) :
First record of bacterial kidney disease in an
apparently wild salmonid in British Columbia.
J.of Fish.Res.Board Can. 30, 1578-1580.

- Evelyn, T.P.T., Prosperi-Porta, L., and Ketcheson, J.E.
(1984) :
The salmonid egg as a vector of the kidney
disease bacterium *Renibacterium salmoninarum*
Fish Diseases-Enfermedades de los Peces, Fourth
COPRAQ Session, Cadiz 1981, Hrsg.Acnigrup,Spanien
- Fiedler, F. und Draxl, R. (1986) :
Biochemical and immunochemical properties of the
cell surface of *Renibacterium salmoninarum*
Inst.f.Genetik u.Mikrobiologie, Univ.München,
in Press.
- Fijan, N. (1977) :
Corynebacteriosis (Dee Disease, .KD) of salmonids
in Yugoslavia
Bull.Off.Int.Epiz., 87, 509
- Fryer, J.L., and Sanders, J.E. (1981) :
Bacterial kidney disease of salmonid fish
Ann.Rev.Microbiol. 35, 237-298
- Ghittino, P., Andruetto, S. and Vigliani, E. (1977) :
Recent findings in trout kidney pathology in
Italy
Bull.Off.Int.Epiz. 78, 491-493
- Haferkamp, O. (1980) :
Zur praktischen Diagnostik granulomatöser Erkrank-
ungen.
In: Dohm, G.,Verhandlungen der Deutschen Gesell-
schaft für Pathologie, 64.Tagung.
Gustav Fischer Verl., Stuttgart-New York, NY
- Harrison, J.G. (1977) :
Salmonid renal histopathology
Bull.Off.Int.Epiz., 87, 495-496
- Harrison, J.G. and Richards, R.H. (1979) :
The pathology and histopathology of nephrocalci-
nosis in rainbow trout, *Salmo gairdneri*
Richardson in freshwater
J.Fish Dis. 2, 1-12
- Hendricks, J.D. and Leek, S.L. (1975) :
Kidney disease postorbital lesions in Spring
Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)
Trans.Am.Fish.Soc. 104, 805-807

- Heymer, B. und Haferkamp, O. (1980) :
Struktur und Biochemie mikrobieller Komponenten
bei Granulombildung.
In: Dohm, G., Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, 64.Tagung.
Gustav Fischer Verl., Stuttgart-New York NY
- Hoffmann, R. (1983) :
BKD auch in der BRD
Fischer und Teichwirt, 3, 68
- Hoffmann, R., Popp, W. and v.d.Graaf, S. (1984)
Atypical BKD predominantly causing ocular and
skin lesions
Bull.Eur.Ass.Fish Pathol. 4 , 7-9
- Johnson, G.D. and Holborrow, E.J. (1973) :
Immunofluorescence and immunoenzyme techniques.
In: Weir, D.M. Handbook of Experimental Immunology, Vol.1, Immunochemistry 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications, London
- Kimura, T. (1978) :
Bacterial kidney disease of salmonids
Fish Pathol. 13, 43-52
- Klontz, W. (1982) :
Bacterial kidney disease in salmonids.
An overview
Presented at: The International Symposium on
the Antigens of Fish Pathogens: Development
and Production of Vaccines and Serodiagnostics.
May 1982, Talloires, France
- Kubota, S.S., Miyazaki, T. and Egusa, S. (1985) :
Color atlas of fish histopathology Vol.1,
Kosei Edition, Tokyo, Japan
- Kusser, W. und Fiedler, F. (1983) :
Murein type and polysaccharide composition
of cell walls from Renibacterium salmoninarum
FEMS Microbiol.Lett. 20, 391-394
- Lillie, R.D. (1948) :
Histopathologic technique
The Blackiston Co., Philadelphia
- Luft, John H. (1961) :
Improvements in epoxy resin embedding methods.
The Journal of Biophysical and Biochemical
Cytology. Vol.9, 409-414

- Mackie, T.J., Arkwright, J.A. and Pryce-Tannett, T.E.
(1933) :
Report of the furunculosis committee
His Majesty's Stationary Off., Edinburgh, Scot.
- MacLean, D.G. and Yoder, W.G. (1970) :
Kidney disease among Michigan Salmon in 1967
Prog. Fish Cult. 32, 26-30
- Mayr, A., Bachmann, P.A., Bibrack, B. und Wittmann, G.
(1977) :
Virologische Arbeitsmethoden, Bd. I
Gustav Fischer Verlag Stuttgart/New York
- Meadows, R. (1973) :
Renal histopathology; a light microscopy study
of renal disease.
Oxford Univ. Press, New York, N.Y.
- Meyers, T.R., and McPherson, B.P. (1985) :
Chronic glomerulonephritis in returning fall
Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum).
from the Rogue River, Oregon
J. Fish Dis. 8, 407-416
- Netter, F.H. (1973) :
Kidneys, ureters, and urinary bladder.
In: R.K. Shapter and F.F. Yonkman
The Ciba Collection of Medical Illustrations,
Vol. VI, CIBA Summit, N.Y.
zitiert nach Young and Chapman (1978)
- Ordal, E.J., and Earp, B.J. (1956) :
Cultivation and transmission of the etiological agent
of kidney disease in salmonid fishes.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 92, 85-88
- Osborne, C.A., Hammer, R.F., Stevens, J.D., Resnick, J.S.
and Michael, A.F. (1977) :
The glomerulus in health and disease. A comparative
review of domestic animals and man
Adv. Vet. Sci. Comp. med. 21, 207-285
- Ouchterlony, O. (1958) :
Diffusion in gel methods for immunological ana-
lysis.
In: Kallos, P., Progress in Allergy, Vol V
Karger Verlag, Basel u. New York

- Ouchterlony, O. (1962) :
Diffusion in gel methods for immunological analysis.
In: Kallos, P. and Waksman, B.H., Progress in Allergy, Vol VI
Karger Verlag, Basel u. New York
- Pfeil-Putzien, C., Hoffmann, R. and Popp, W. (1985a) :
Preliminary report on the occurrence of BKD in Germany.
Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 5, 30-31
- Pfeil-Putzien, C., Hoffmann, R., Popp, W. u. Schauner, M. (1985b) :
Zur Verbreitung der BKD der Salmoniden in der BRD.
Zbl. Vet. Med. B 32, 541-547
- Popp, W. (1980) :
Corynebakterien, die Erreger der "Kidney Disease".
In: Reichenbach-Klinke, Krankheiten und Schädigungen der Fische, 2. Auflage, Gustav Fischer Verlag Stuttgart
- Ribelin, W.E. and Migaki, G. (1975) :
The pathology of fishes
University of Wisconsin Press, London
- Richards, R.H. (1984) :
Bacterial kidney disease
In: Disease and health control of farmed fish (including shellfish and crustacea) in Europe
Institute of Aquaculture, Univ. of Stirling, Scot.
- Richards, R.H., Roberts, R.J. und Schlotfeld, H.-J. (1985) :
Bakterielle Erkrankungen der Knochenfische
In: Roberts, R.J./ Schlotfeldt, H.-J., Grundlagen der Fischpathologie, Verl. Paul Parey, Berlin-Hamburg
- Robbins, S.L. (1974) :
Pathologic basis of disease
W.B. Saunders, Philadelphia, PA
zitiert nach Young and Chapman (1978)
- Roberts, R.J. (1978) :
Fish pathology
Bailliere Tindall, London
- Roberts, R.J. und Schlotfeldt (1985) :
Grundlagen der Fischpathologie
Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg
- Rucker, R.R., Earp, B.J. and Ordal, E.J. (1953) :
Infectious diseases of pacific salmon
Trans. Am. Fish. Soc. 83, 297-312

- Sanders, J.E. and Fryer, J.L. (1980) :
Renibacterium salmoninarum gen.nov., sp.nov.,
the causative agent of BKD in salmonid fishes
Int.J.Syst.Bacteriol. 20. 496-502
- Sandersleben, J.von, Dämmrich, K., Dahme, E. (1981) :
Pathologische Histologie der Haustiere
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York
- Sandritter, W. und Schorn, J. (1965) :
Histopathologie
F.K.Schattauer Verl. Stuttgart
- Schäperclaus, W. (1979) :
Fischkrankheiten, 4.Auflage
Akademie Verlag Berlin
- Schauner, M. (1986) :
Untersuchungen zum serologischen Nachweis der
Bakteriellen Nierenerkrankung (BKD) der
Salmoniden.
Diss. an der Tierärztl.Fakultät der L.M.U.
München.
- Smith, I.W. (1964) :
The occurrence and pathology of Dee Disease
Edinburgh: Her Majesty's Stationary Office
- Snieszko, S.F., and Griffin, P.J. (1955) :
Kidney disease in brook trout and its treatment
Prog.Fish Cult. 17, 3-13
- Sporri, H. und Stünzi, H. (1969) :
Pathophysiologie der Haustiere
Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg
- Taylor, R.D. (1966) :
Modification of the Brown and Brenn gram stain
for the differential staining of gram-positive
and gram-negative bacteria in tissue sections
Am.J.Clin.Pathol. 46, 472-474
- Warren, J.W. (1983)
Bacterial kidney disease
In: A guide to integrated fish health management
in the great lakes basin, Great Lakes Fishery
Commission, Michigan, April 1983
- Wedemeyer, G.A. (1976) :
Physiological response of juvenile Coho Salmon
(Oncorhynchus kisutch) and Rainbow Trout
(Salmo gairdneri) to handling and crowding stress
in intensive fish culture
J.Fish.Res.Board Can. 33, 2699-2702

- Wedemeyer, G.A. and Ross, A.J. (1973) :
Nutritional factors in the biochemical pathology
of corynebacterial kidney disease in the Coho
Salmon (*Oncorhynchus kisutch*)
J.Fish.Res.Board Can. 30, 296-298
- Wolke, R.E. (1975) :
Pathology of bacterial and fungal diseases
affecting fish
In: Ribelin, E., Migaki, G., Pathology of Fishes
Univ. of Wisconsin Press, London
- Wood, E.M., Yasutake, W.T., Lehmann, W.L. (1955) :
A mycosis-like granuloma of fish
J. Infec. Dis. 97, 262-267
- Wood, E.M., and Yasutake, W.T. (1956) :
Histopathology of kidney disease in fish.
Am. J. Pathol. 32, 845-857
- Young, C.K., and Chapman, B. (1978) :
Ultrastructural aspects of the causative agent
and renal histopathology of bacterial kidney
disease in brook trout (*Salvelinus fontinalis*)
J. Fish. Res. Board Can. 35, 1234-1248

Herrn Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die freundliche Unterstützung bei Erstellung und Korrektur der Arbeit.

Eine große Hilfe war mir die persönliche Beratung und sachliche Anleitung von Frau Dr. C. Pfeil - Putzien, der ich hiermit besonders danken möchte.

Herzlich bedanke ich mich bei Frau Dr. T. Fischer - Scherl, die mir mit großem Engagement die Arbeit am Elektronenmikroskop ermöglichte.

Frau B. Klumpp danke ich sehr für die Hilfe bei lichtmikroskopischen Arbeits- und Färbemethoden.

Bei Frau S. Friedrich möchte ich mich für die Anfertigung der Ultradünnschnitte bedanken.

Die Herstellung der Abzüge für die Fotos der Arbeit konnte durch die freundliche Hilfe von Herrn Seibt von der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung erfolgen.

Durch die sorgfältige Betreuung der Versuchsfische durch Herrn Busch wurde der reibungslose Ablauf der Infektionsversuche gewährleistet, und ich möchte ihm hierfür sehr herzlich danken.

Nicht zuletzt danke ich ganz besonders meinen lieben Eltern für ihre Unterstützung in den aufreibenden Wochen vor dem Abgabetermin.

LEBENS LAUF

Sibylle Kettler

- Geboren: 6. Januar 1954 in Düsseldorf
- Eltern: Marianne Kettler, geb. Baeßler
Emil Erwin Kettler
- Schul Ausbildung: 1960 - 1965 Ernst Eversbusch Volksschule
Hagen - Haspe
1965 - 1966 neusprachl. Mädchen Ober-
realschule, Hagen - Haspe
1966 - 1974 Bertold Brecht Gymnasium
München - Pasing
allg. Hochschulreife 22.06.1974
- Berufsausbildung: 1976 - 1978 Ausbildung zur Tierarzt-
helferin bei Dr. R. Grassler,
Truchtlaching
Tierarzthelferinnenbrief 24.07.1978
- Studium: 1974 - 1975 Agrarwissenschaft an der
T.U. München - Weihenstephan
1978 - 1984 Tiermedizin an der
L.M.U. München
Abschluß: Staatsexamen am 14.08.1984
- Approbation: 27.02.85
- Dissertation: Ab März 1985, am Institut für Zoologie
und Hydrobiologie der Tierärztlichen
Fakultät der L.M.U. München

